

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

THIS PAGE BLANK (USPTO)



(51) Internationale Patentklassifikation 5 : C07K 5/04, A61K 37/64		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 92/16549 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. Oktober 1992 (01.10.92)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/CH92/00054 (22) Internationales Anmeldedatum: 17. März 1992 (17.03.92)		(74) Anwalt: BRAÜN, André; Murtengasse 5, CH-4051 Basel (CH).	
(30) Prioritätsdaten: 818/91-0 18. März 1991 (18.03.91) CH		(81) Bestimmungsstaaten: AT, AT (europäisches Patent), AU, BB, BE (europäisches Patent), BF (OAPI Patent), BG, BJ (OAPI Patent), BR, CA, CF (OAPI Patent), CG (OAPI Patent), CH, CH (europäisches Patent), CI (OAPI Patent), CM (OAPI Patent), CS, DE, DÉ (europäisches Patent), DK, DK (europäisches Patent), ES, ES (europäisches Patent), FI, FR (europäisches Patent), GA (OAPI Patent), GB, GB (europäisches Patent), GN (OAPI Patent), GR (europäisches Patent), HU, IT (europäisches Patent), JP, KP, KR, LK, LU, LU (europäisches Patent), MC (europäisches Patent), MG, ML (OAPI Patent), MN, MR (OAPI Patent), MW, NL, NL (europäisches Patent), NO, PL, RO, RU, SD, SE, SE (europäisches Patent), SN (OAPI Patent), TD (OAPI Patent), TG (OAPI Patent), US.	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): PENTA-PHARM AG [CH/CH]; Engelgasse 109, CH-4052 Basel (CH). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): STÜRZEBECHER, Jörg [DE/DE]; Hubertusstr. 38, D-5089 Erfurt (DE). VIEWEG, Helmut [DE/DE]; In den Grundmatten 36, D-7888 Rheinfelden 3 (DE). WIKSTROEM, Peter [SE/CH]; Stallenmattstr. 49, CH-4104 Oberwill (CH).		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i>	
(54) Title: PARASUBSTITUTED PHENYLALANINE DERIVATES (54) Bezeichnung: PARA-SUBSTITUIERTE PHENYLALANIN-DERIVATE (57) Abstract <p>D,L-, L- and D-phenylalanine derivates having formula (I) defined in the first claim, in which R₁ stands for an amidino, guanidino, oxamidino, aminomethyl or amino group, have been discovered. These derivates are effective as anti-coagulants or antithrombotic agents. The antithrombotically active compounds have low toxicity and may be perorally, anally, subcutaneously or intravenously administered.</p>			
(57) Zusammenfassung <p>D,L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der im Patentanspruch I definierten Formel (I), in denen R₁ für eine Amidino-, Guanidino-, Oxamidino-, Aminomethyl- oder Aminogruppe steht, wurden gefunden, die blutgerinnungshemmend resp. antithrombotisch wirksam sind. Die antitrombotisch wirksamen Verbindungen weisen eine geringe Toxizität auf und können peroral, anal, subkutan oder intravenös verabreicht werden.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen:

AT	Oesterreich	FI	Finnland	MN	Mongolei
AU	Australien	FR	Frankreich	MR	Mauritanien
BB	Barbados	GA	Gabon	MW	Malawi
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	PL	Polen
BJ	Benin	HU	Ungarn	RO	Rumänien
BR	Brasilien	IE	Irland	RU	Russische Föderation
CA	Kanada	IT	Italien	SD	Sudan
CF	Zentrale Afrikanische Republik	JP	Japan	SE	Schweden
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SN	Senegal
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SU	Soviet Union
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	TD	Tschad
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	TG	Togo
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DE*	Deutschland	MC	Monaco		
DK	Dänemark	MG	Madagaskar		
ES	Spanien	ML	Mali		

- 1 -

Para-substituierte Phenylalanin-Derivate

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteinase-Inhibitoren, die als Grundstruktur Phenylalanin enthalten, wobei der aromatische Rest in para-Stellung substituiert ist. Durch Variation des Substituenten am Phenylrest, Einführung saurer Aminosäuren in Nα-Position bzw. C-terminale Einführung von insbesondere heterocycloaliphatischen Aminocarbonsäuren mit hydrophoben Eigenschaften wurden Inhibitoren mit verbesserter Bioverfügbarkeit gefunden.

Proteinase-Inhibitoren sind potentielle Arzneimittel, die zur Steuerung physiologischer Prozesse, welche durch Proteinasen ausgelöst und unterhalten werden, verwendet werden können. Für zahlreiche endogene bzw. natürlich vorkommende Hemmstoffe ist gezeigt worden, dass sie *in vivo* die Aktivität von Proteinasen beeinflussen und hyperproteolytische Zustände dämpfen können [Siehe Hörl, W.H. In: Design of Enzyme Inhibitors as Drugs, S. 573-581, (Sandler, M. and Smith, H.J., Eds.) Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press, 1989]. Der therapeutische Einsatz dieser relativ hochmolekularen Hemmstoffe ist allerdings wegen ihrer besonderen Proteinstruktur begrenzt. Da diese Hemmstoffe einerseits nach oraler Verabreichung im Darm nicht resorbierbar sind und andererseits eine antigene Aktivität

- 2 -

ausüben, wurde nach synthetischen kleinmolekularen Enzym-Inhibitoren Ausschau gehalten.

Die vier Klassen von Enzymen, die für Proteinases-abhängige Prozesse verantwortlich sind, umfassen die Serin-, Thiol-, Metallo-, und Aspartat-Proteinasen. Serin-Proteinasen sind proteolytische Enzyme, die einen reaktiven Serin-Rest im aktiven Zentrum besitzen. Zur Trypsin-Familie der Serin-Proteinasen gehören Enzyme, die wie Trypsin als solches C-terminale Peptidbindungen der basischen Aminosäuren Arginin und Lysin spalten. In dieser Gruppe sind diejenigen Enzyme von besonderer physiologischer Bedeutung, welche im Blut Gerinnung und Fibrinolyse auslösen, Kinin freisetzen und die Komplement-Aktivierung bewirken oder solche, die selber Komponenten der genannten Enzymsysteme sind.

Die Blutgerinnung wird über zwei unterschiedliche Wege durch Zymogen-Aktivierung ausgelöst. Der erste, endogene Weg, führt über eine durch Blutkomponenten vermittelte Reaktionskette zur Blutgerinnung. Der zweite, exogene Weg führt über eine kürzere, auf einer Wechselwirkung zwischen Blut- und Gewebekomponenten beruhenden Reaktionskette zur Gerinnung. Beide Wege bewirken die Aktivierung des Zymogens Faktor X zur Serinproteinase Faktor X_a , welche ihrerseits die Aktivierung des Prothrombins zur Fibrinogen-koagulierenden Serin-Proteinase Thrombin katalysiert. Als gemeinsames Produkt sowohl des endogenen als auch des exogenen Aktivierungsablaufs wurde Faktor X_a zunächst als ein bevorzugtes Zielenzym für hemmende Eingriffe in den Blutgerinnungsvorgang angesehen (Tidwell, R. R. et al., Thromb. Res. 19, 339-349, 1980). In jüngster Zeit wurde aber nachgewiesen, dass synthetische Inhibitoren des Faktors X_a in vitro und in vivo nicht gerinnungshemmend (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 54, 245-252, 1989) und antithrombotisch wirksam sind (Hauptmann, J. et al., Thromb. Haemostas. 63, 220-223, 1990). Aus diesem Grund konzentriert sich die Entwicklung von antikoagulativ wirkenden Hemmstoffen auf die Auffindung von Inhibitoren

des Thrombins.

Trypsin selbst kann hyperproteolytische Zustände im Pankreas, also in der Drüse, in der es als Zymogen gebildet wird, auslösen. Man muss davon ausgehen, dass Spuren von Trypsinogen in der Drüse zu Trypsin aktiviert werden und dass das gebildete Trypsin auch andere Proenzyme in die enzymatisch aktive Form überführt.

Die Ausschaltung der Trypsinaktivität durch Inhibitoren wäre demnach ein wirksamer Eingriff zur Verhinderung von Aktivierungsvorgängen. Da die Hemmung aber primär in der Drüse stattfinden muss, muss der Inhibitor in die Zellen des Pankreas gelangen. Der natürlich vorkommende Hemmstoff Aprotinin hat als Miniprotein in vivo dazu allerdings keine Chance, kann aber sekundäre Ereignisse (Schock) günstig beeinflussen. Im Gegensatz dazu konnte mit kleinmolekularen Inhibitoren, die sich von der 4-Guanidinozenoësäure ableiten, gezeigt werden, dass derartige Verbindungen in der Lage sind, bei der experimentellen Pankreatitis an der Ratte die Enzymaktivität sowohl in der Drüse als auch im Blut zu reduzieren (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986).

Zur Entwicklung von synthetischen Inhibitoren für Trypsin und seinen verwandten Enzymen sind Derivate des Benzamidins vielfach untersucht worden (Stürzebecher, J. et al., Acta Biol. Med. Germ. 35, 1665-1676, 1976).

Aminosäurederivate mit Benzamidin-Struktur und para-ständiger Amidinogruppe haben sich als günstige Grundstrukturen für die Entwicklung von wirksamen Hemmstoffen des Trypsins erwiesen. So ist das Aminosäure-Derivat Nα-(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidinophenylalanin-piperidid zwar der bisher stärkste, beschriebene Thrombin-Hemmstoff ($K_i = 6 \times 10^{-9}$ Mol/Liter) vom Benzamidintyp. Der als NAPAP bezeichnete Hemmstoff gehört aber mit einem K_i von $7,9 \times 10^{-7}$ Mol/Liter auch zu den wirksamen Trypsin-Hemmstoffen (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 29, 635-642, 1983).

Es sind noch weitere Typen von Inhibitoren bekannt, die Trypsin bzw. Thrombin ebenfalls wirksam hemmen: Eine

- 4 -

erste Gruppe beinhaltet Peptidyl-arginin-chlormethylketone, z.B. Dns-Glu-Gly-Arg-CH₂Cl, welches Trypsin hemmt (Kettner, C. et al., Meth. Enzymol. 80, 826-842, 1981) bzw. H-D-Phe-Pro-Arg-CH₂Cl, welches auch Thrombin hemmt (Kettner, C. et al., Thromb. Res. 14, 969-973, 1979). Eine zweite Gruppe beinhaltet Peptidylargininaldehyde, z.B. Boc-D-Phe-Pro-Arg-H und H-D-Phe-Pro-Arg-H (Bajusz, S., Int. J. Peptide Protein Res. 12, 217-221, 1978), welche Trypsin und Thrombin mit vergleichbarer Affinität hemmen. Diese Inhibitoren sind jedoch instabil und können wegen ihrer grossen Reaktionsfähigkeit unerwünschte Nebenreaktionen verursachen. Trypsin und Thrombin werden in einer zeitabhängigen Reaktion ebenfalls durch das Boronsäurederivat Boc-D-Phe-Pro-Boro-Arg-C₁₀H₁₆ (s. Europ. Patentanmeldung No. 0 293 881) gehemmt. Der selektive Thrombininhibitor (2R,4R)-4-Methyl-1-[Na-(3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-chinolinsulfonyl)-L-arginin]-2-pipecolincarbonsäure hat auch eine gewisse Trypsin-hemmende Aktivität (Kikumoto, R. et al., Biochemistry 23, 85-90, 1984).

Als therapeutisch verwendbare nicht-selektive Inhibitoren, die unter anderem Trypsin und Thrombin hemmen, sind das Methansulfonsäuresalz des 4-(6-Guanidino-hexanoyloxy)-benzoësäure-ethylesters (Muramatu, M. et al., Biochim. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972) und das Dimethansulfonsäuresalz der 6-Amidino-2-naphthyl-p-guanidinobenzoësäure (s. US Patent Nr. 4 454 338), das zur Behandlung der akuten Pankreatitis vorgeschlagen wurde (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986), beschrieben.

Alle bisher geprüften Benzamidinderivate besitzen für eine therapeutische Anwendung ungünstige pharmakodynamische und pharmakokinetische Eigenschaften. Sie werden bei oraler Applikation nicht im Darm resorbiert, werden schnell aus der Zirkulation eliminiert und ihre Toxizität ist relativ hoch. Das gilt sowohl für die Amide des N- α -arylsulfonylierten (Markwardt, F. et al., Thromb. Res. 17, 425-431, 1980), als auch für Amide des N- α -aryl-sulfonylaminoacylierten 4-Amidinophenylalanins (s. Patentanmeldung No.

- 5 -

DD-A-235 866). Verantwortlich für die unzureichenden pharmakologischen Eigenschaften ist die stark basische Amidinofunktion (Kaiser, B. et al., Pharmazie 42, 119-121, 1987). Versuche, die stark basische Amidinofunktion in hochwirksamen Inhibitoren durch schwächer basische Gruppen zu ersetzen, schlugen fehl; solche Veränderungen hatten einen bedeutenden Verlust an Wirkungsstärke zur Folge (Stürzebecher, J. et al., Pharmazie 43, 782-783, 1988). Auch die Einführung einer Carboxylgruppe in den Inhibitor zur Verminderung der Basizität der Amidinofunktion führte zum Abfall der Inhibitoraktivität. So sind Derivate des 4-Amidinophenylalanins, die C-terminal eine Aminosäure mit freier Carboxylgruppe besitzen, inhibitorisch völlig wirkungslos (Wagner, G. et al., Pharmazie 39, 16-18, 1984; Vieweg, H. et al., Pharmazie 39, 82-86, 1984).

Auch die Abwandlung von NAPAP durch Einführung eines Substituenten am α-Stickstoff, die zu einer geringen Erhöhung der Antithrombinaktivität führte (s. Europ. Patentanmeldung No. FR-A-2 593 812) erbrachte keine Verbesserung der pharmakologischen Eigenschaften (Cadroy, Y. et al., Thromb. Haemostas. 58, 764-767, 1987).

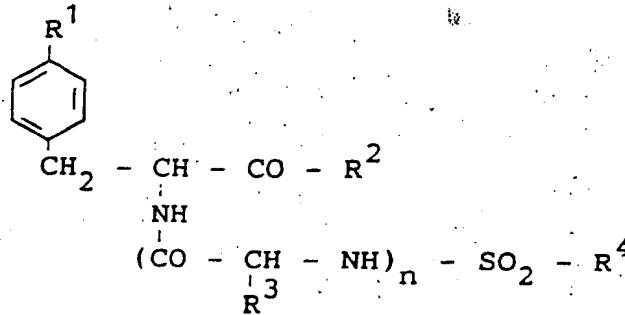
Für die Entwicklung selektiver Hemmstoffe des Trypsins liegen inzwischen günstige Voraussetzungen vor. So sind die Röntgen-Kristallstrukturen der Komplexe von Trypsin nicht nur mit Benzamidin (Bode, W. und Schwager, P., J. Molec. Biol. 98, 693-717, 1975) und seinen einfachen Derivaten (Walter, J. und Bode, W., Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 364, 949-959, 1983), sondern auch mit den Thrombinhemmstoffen Na-(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidinophenylalan-piperidid (Bode, W. et al., Eur. J. Biochem. 193, 175-182, 1990) und (2R,4R)-4-Methyl-1-[Na-(3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-chinolinsulfonyl)-L-arginin]-2-pipecolincarbonsäure (Matsuzaki, T. et al., J. Biochem. 105, 949-952, 1989), die mit Trypsin ebenfalls stabile Komplexe bilden, bekannt.

- 6 -

Ausgehend von den Differenzen in den Bindungsbereichen des aktiven Zentrums zwischen Trypsin und Thrombin, wurde versucht, durch Modifikation der Grundstrukturen therapeutisch verwendbare Trypsin-Inhibitoren mit guten pharmakologischen Eigenschaften zu konzipieren. So war zu erwarten, dass beispielsweise Verbindungen mit einer sauren Aminosäure anstelle von Glycin in dem Hemmstoff $\text{Na}-(2\text{-Naphthylsulfonyl})\text{-glycyl-4-amidinophenylalanin-piperidid}$ nicht mehr an Thrombin gebunden werden, da Thrombin in Position 192 einen Glutaminsäure-Rest besitzt (Bode, W. et al., Eur. J. Biochem. 193, 175-182, 1990). Demgegenüber sollte die Bindungsfähigkeit an Trypsin erhalten bleiben bzw. verbessert werden, da im Trypsin an dieser Stelle ein ungeladener Glutamin-Rest positioniert ist. In diesem Rahmen wurde beispielsweise $\text{Na}-(2\text{-Naphthylsulfonyl})\text{-aspartyl-4-amidinophenylalanin-piperidid}$ hergestellt. Es wurde festgestellt, dass diese Verbindung nicht wie erwartet Trypsin selektiv hemmt, sondern überraschenderweise Thrombin. Es wurde ferner festgestellt, dass diese Verbindung verbesserte pharmakokinetische Eigenschaften besitzt, und insbesondere nach subkutaner Verabreichung an Ratten durch den Darm resorbiert wird, im Blut über einen längeren Zeitraum in wirksamer, blutgerinnungshemmender Konzentration verfügbar bleibt und sehr wenig toxisch ist. Dies trifft auch für Verbindungen zu, die im C-terminalen Teil heteroaliphatische Aminosäuren tragen.

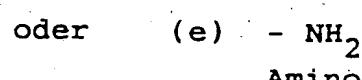
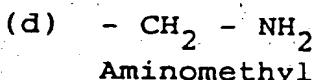
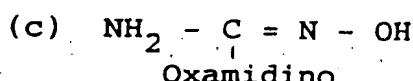
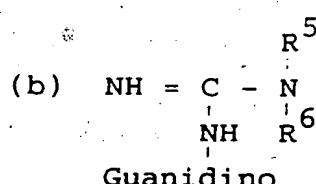
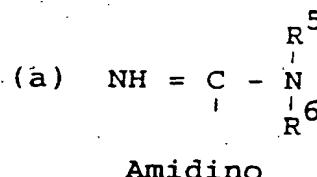
- 7 -

Die vorliegende Erfindung betrifft neue Proteinase-hemmende D,L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der Formel



in welcher

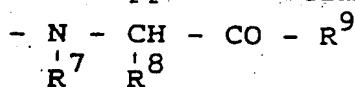
R¹ eine basische Gruppe der Formel



darstellt, wobei R⁵ und R⁶ in den Formeln (a) und (b) je Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest bezeichnen.

R^2 (f) OH, O-Alkyl, O-Cycloalkyl, O-Aralkyl sein kann.

(g) eine Gruppe der Formel

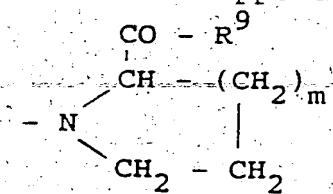


darstellt, in welcher R⁷ Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest und R⁸ einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest, einen 1- oder 2-Hydroxyethylrest, einen Methylmercaptoethylrest, einen Aminobutylrest, einen Guanidinopropylrest, einen Carboxy(niedrigen)alkylrest, einen Carboxamido(niedrigen)alkylrest, einen

- 8 -

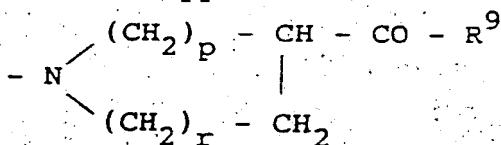
Phenyl(niedrigen)alkylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, einen Cyclohexyl- oder Cyclohexylmethylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, oder einen N-Heteroaryl(niedrigen)alkylrest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl, z.B. Imidazolylmethyl oder Indolylmethyl, bezeichnen, wobei die Gruppe (g) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann,

(h) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist, wobei die Gruppe (h) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann,

(i) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher $p = r = 1$, $p = 1$ und $r = 2$ oder $p = 2$ und $r = 1$ sind und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist,

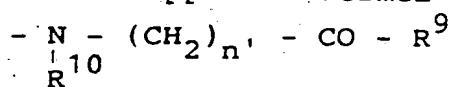
(k) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 mit einem niederen Alkyl-, Hydroxyalkyl- oder Hydroxyl-rest substituiert ist,

wobei an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (h), (i), (k) ein weiterer aromatischer od r cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder

- 9 -

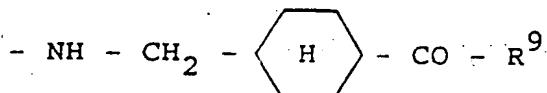
Cyclohexyl, in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert sein kann,

(l) eine Piperazylgruppe, die gegebenenfalls in p-Stellung mit einem niederen Alkylrest, einem Arylrest oder einem Alkoxy carbonylrest substituiert ist,
 (m) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher n' die Zahlen 1 bis 6 und R¹⁰ Wasserstoff oder den Methyl- oder Cyclohexylrest bezeichnen und R¹ = (b) bis (e) sein kann,

(n) eine Gruppe der Formel



darstellt, wobei R⁹ in den Formeln (g), (h), (i), (l), (m) und (n) eine Hydroxyl-, geradkettige oder verzweigte niedrige Alkoxy, Cycloalkoxy oder eine Aralkoxy Gruppe bezeichnet,

oder

(o) eine Kombination von 2 bis 20, vorzugsweise 2 bis 5, insbesondere 2 oder 3, der von den unter (g), (h), (i), (k), (l), (m) und (n) definierten Gruppen abgeleiteten, durch Amidbindungen verknüpften Resten (R⁹ = Einfachbindung) darstellt, wobei der C-terminale Rest gegebenenfalls mit einem Rest R⁹ verknüpft ist,

R³ Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkyl-, Aralkyl-, Carboxyalkyl-, Alkoxy carbonyl-alkyl-, Carboxamido-alkyl-, Heteroarylalkyl- oder einen 1- oder 2-Hydroxyethyl-Rest darstellt, wobei n die Zahl 0 oder 1 bezeichnet und die gegebenenfalls eingeschobene Aminosäure racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert sein kann, und

R⁴ einen Arylrest, z.B. Phenyl, Methylphenyl, α- oder β-Naphthyl oder 5-(Dimethylamino)-naphthyl, oder einen Heteroarylrest, z.B. Chinolyl, darstellt, wobei niedrig 1-4 Kohlenstoffatome bedeutet,

- 10 -

und deren Salze mit Mineralsäuren oder organischen Säuren.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = Amidino (a) können nach den nachfolgend beschriebenen, an sich bekannten Methoden hergestellt werden.

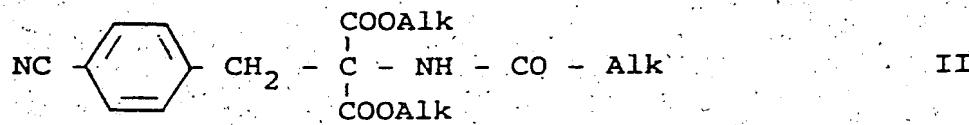
Von den in den allgemeinen Ansprüchen definierten Phenylalanin-Derivaten sind Verbindungen, bei denen

R² O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl falls n=0, ist, einen heterocycloaliphatischen Rest, der in den Formeln (h), (i), (k) und (l) näher erläutert ist, darstellt,

R⁴ β-Naphthyl, bezeichnet und

n die Zahl 1, bedeutet, von besonderer Bedeutung.

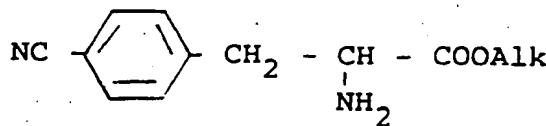
4-Cyanbenzyl-acylamino-malonsäurediester, der allgemeinen Formel II,



in welcher Alk vorzugsweise - CH₃ oder - C₂H₅ bedeutet, werden in einer Mischung von 3 N HCl und Eisessig durch rückfliessendes Erhitzen zu 4-Cyanphenylalanin III



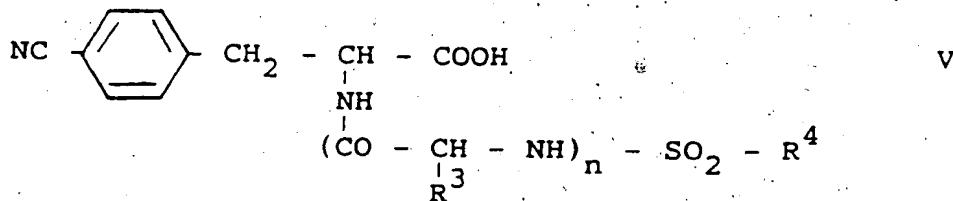
umgesetzt, dessen Veresterung mit einem niederen Alkohol, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure oder Schwefelsäure zum 4-Cyanphenylalaninalkylester IV.



IV

führt.

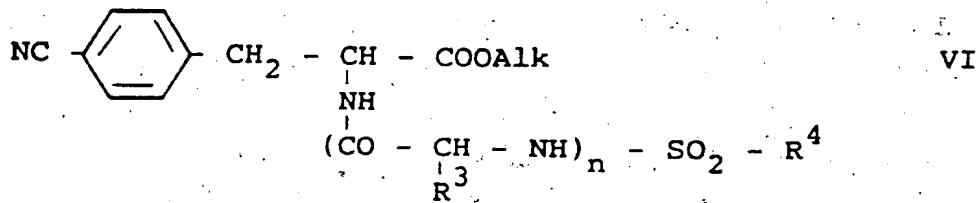
Durch Sulfonylierung der Verbindungen III mit einem Aryl- bzw. Heteroarylsulfonylchlorid oder Acylierung mit einem sulfonylierten Aminosäurehalogenid in Gegenwart einer Base werden die Verbindungen der allgemeinen Formel V,



V

in welcher $n = 0$ oder 1 ist und R^3 und R^4 die in der allgemeinen Formel I beschriebenen Bedeutungen besitzen, erhalten.

Nach einer zweiten Variante werden zur Darstellung der Verbindungen V sulfonylierte Aminosäuren mit dem Carbonsäureester IV nach dem DCC-Verfahren zunächst zu Verbindungen der allgemeinen Formel VI

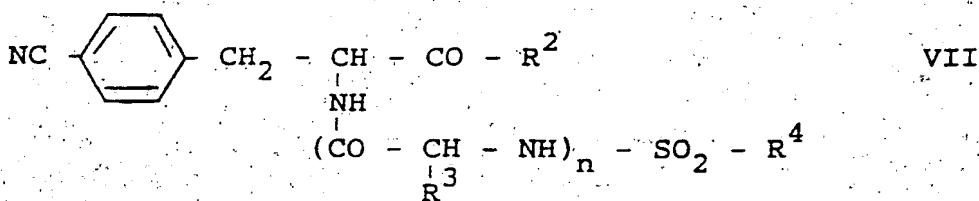


VI

mit Carbonsäureesterstruktur umgesetzt, aus denen nach alkalischer Hydrolyse die Verbindungen V erhalten werden. Die Bedeutungen von n , R^3 und R^4 in der allgemeinen Formel VI entsprechen denen der Verbindungen V.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel VII,

- 12 -



in welcher R^2 die in der allgemeinen Formel I unter (g), (h), (i), (k), (l), (m), (n) und (o) sowie R^3 und R^4 die in dieser Formel genannten Bedeutungen besitzen und R^9 eine geradkettige oder verzweigte Alkoxy- bzw. Benzyloxy-Gruppe darstellt, werden gemäss einer ersten Methodenvariante durch Umsetzung der Verbindungen V mit einem entsprechenden Aminosäureester nach dem Mischanhydridverfahren dargestellt, indem die Verbindungen der Struktur V mit vorzugsweise Chlorameisensäureisobutylester in Gegenwart einer geeigneten tertiären Base, z.B. 4-Methylmorpholin, bei -15° bis -20°C in einem aprotischen Lösungsmittel zur Reaktion gebracht und anschliessend mit einem Aminosäureester, oder Amin umgesetzt werden.

Gemäss einer zweiten Methodenvariante werden die Verbindungen der allgemeinen Formel V nach dem DCC-Verfahren mit entsprechenden Aminosäureestern umgesetzt, indem die Verbindungen V in einem geeigneten aprotischen Lösungsmittel mit Dicyclohexylcarbodiimid in Gegenwart von 1-Hydroxybenzotriazol zur Reaktion gebracht und mit den genannten Aminosäureestern oder Aminen zu VII umgesetzt werden.

Gemäss einer dritten Methodenvariante werden die Verbindungen der Struktur V nach Überführung in aktive Ester mit beispielsweise N-Hydroxysuccinimid, 2,3,4,5,6,-Pentafluorphenol oder p-Nitrophenol in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid isoliert bzw. ohne zwischenzeitliche Isolierung mit entsprechenden Aminosäureestern oder Aminen zu Verbindungen der allgemeinen Formel VII umgesetzt.

Gemäss einer vierten Methodenvariante werden Verbindungen der Struktur V, bei denen $n = 0$ ist, mit beispielsweise Thionylchlorid in Säurechloride übergeführt, die anschliessend mit entsprechenden Aminosäureestern oder

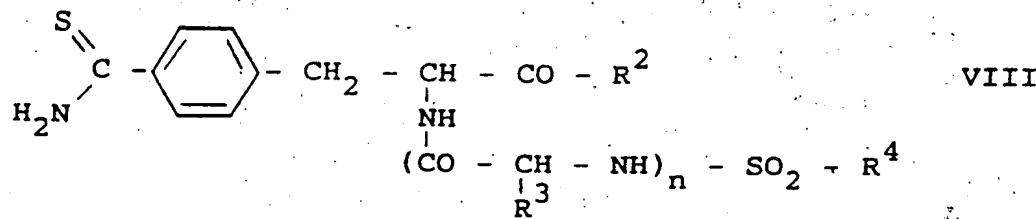
- 13 -

Aminen zu Verbindungen der allgemeinen Formel VII umgesetzt werden.

Durch milde alkalische oder saure Hydrolyse mit beispielsweise verdünnter NaOH oder Trifluoressigsäure von Verbindungen der Struktur VII werden die Verbindungen mit Carbonsäurestruktur der allgemeinen Formel VII, wobei R², R³ und R⁴ die in der allgemeinen Formel I genannten Bedeutungen besitzen und das in R² definierte R⁹ = OH ist, erhalten.

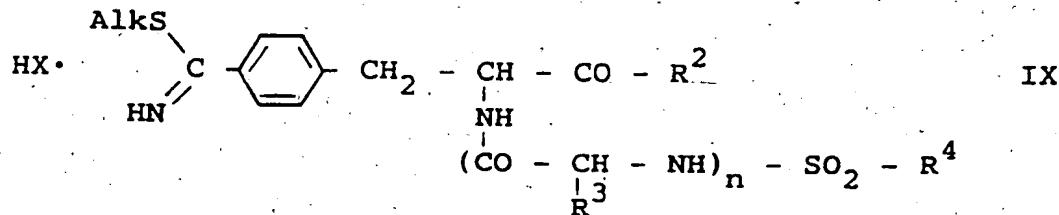
Ausgehend von den Verbindungen mit Carbonsäurestruktur VII können nach den vorher beschriebenen Verfahren weitere Aminosäuren gekoppelt werden.

Durch Addition von H₂S an VII mit Carbonsäure- oder Carbonsäureesterstruktur in Pyridin in Gegenwart von Triethylamin werden die Thioamide der allgemeinen Formel VIII



erhalten, wobei die Bedeutungen der Substituenten R², R³ und R⁴ denen der allgemeinen Formel I entsprechen.

Durch Umsetzung der Verbindungen VIII mit einem Alkylhalogenid, vorzugsweise Methyliodid, werden die Thioimid-säureesterhalogenide IX

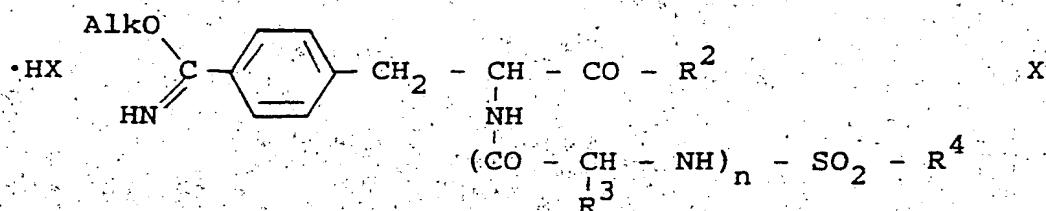


erhalten. Die Bedeutungen von n und R² bis R⁴ entspricht denen der allgemeinen Formel I, Alk stellt niedrig Alkyl, vorzugsweise - CH₃, dar und X bedeutet Halogen, im allgemeinen Iod.

Ausserdem können die Verbindungen VII mit einem niederen Alkohol, gegebenenfalls in Anwesenheit eines

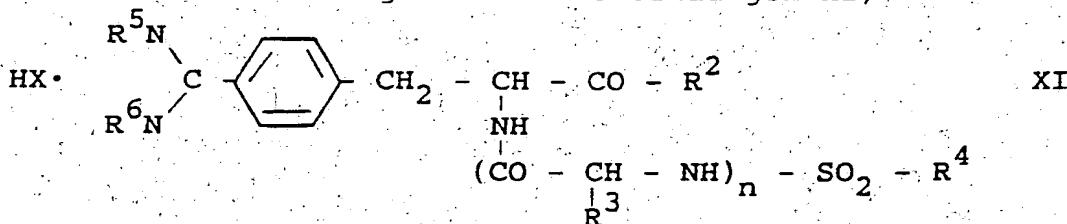
14 -

Lösungsmittels wie beispielsweise Dioxan oder Chloroform, in Gegenwart von wasserfreiem Halogenwasserstoff in Imidsäureesterhalogenide X



übergeführt werden, wobei Verbindungen mit freier -COOH-Gruppe gleichzeitig mit dem verwendeten Alkohol verestert werden. Die Bedeutungen von n und R² bis R⁴ entsprechen denen der allgemeinen Formel I, Alk stellt niedrig Alkyl, vorzugsweise -CH₃ oder -C₂H₅, dar und X bedeutet Halogen, im allgemeinen Chlor.

Zur Darstellung der Zielverbindungen XI,



mit $n = 0$ oder 1 und den Bedeutungen der Substituenten R^1 bis R^6 analog denen der allgemeinen Formel I und $X =$ Halogen, werden die Thioimidsäureestersalze IX in alkoholischer Lösung mit Ammoniumacetat bzw. einem Alkylammoniumacetat oder die Imidsäureestersalze X in alkoholischer Ammoniaklösung zu XI umgesetzt.

Verbindungen XI mit einem t-Butoxy-Rest (R^9) im Substituenten R^2 können anschliessend durch Hydrolyse mit Trifluoressigsäure in Verbindungen XI mit Carbonsäurestruktur ($R^9 = OH$) übergeführt werden.

Verbindungen XI mit einer OH-Gruppe (R^2 oder R^9) können anschliessend mit vorzugsweise niederen aliphatischen (C_1-C_8), cycloaliphatischen oder araliphatischen Alkoholen, in Gegenwart von Chlorwasserstoff oder p-Toluolsulfinsäure in Verbindungen XI mit Carbonsäureesterstruktur ($R^2, R^9 = O\text{-Alkyl}, O\text{-Cycloalkyl}, O\text{-Aralkyl}$) übergeführt werden.

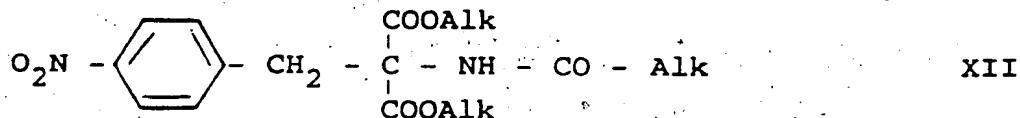
- 15 -

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = Oxamidino (c) werden auf dem gleichen Syntheseweg wie die Verbindungen mit R¹ = Amidino (a), über die Zwischenprodukte der Formeln II bis IX, dargestellt. Im letzten Syntheseschritt werden die Thioimidsäureestersalze IX mit Hydroxylammoniumacetat zu Verbindungen der allgemeinen Formel I umgesetzt, wobei R¹ die Oxamidino-Gruppe (c) darstellt.

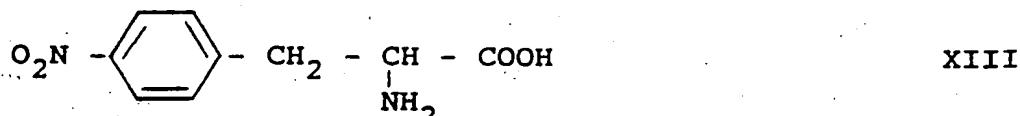
Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = Aminomethyl (d) werden ebenfalls auf diese Weise über die Zwischenprodukte der Formeln II bis VII dargestellt. Um zu den Zielverbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = CH₂ - NH₂ zu gelangen, werden die Cyanverbindungen VII katalytisch, beispielsweise mit Raney-Nickel/Wasserstoff in alkoholischer Lösung in Gegenwart von Ammoniak, zu den Aminomethylverbindungen reduziert. Die erhaltenen freien Basen werden in geeigneter Weise in Salze, vorzugsweise Hydrochloride, übergeführt.

Die Verbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = Guanidino (b) können prinzipiell nach dem gleichen Syntheschema wie die mit Amidinostuktur (a) dargestellt werden.

Dazu werden 4-Nitrobenzyl-acylamino-malonsäurediester der allgemeinen Formel XII,

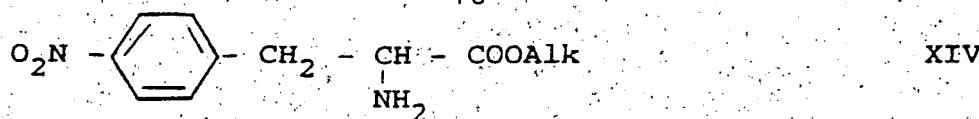


in welcher Alk vorzugsweise - CH₃ oder - C₂H₅ bedeutet, durch rückfliessendes Erhitzen in einer Mischung von 3 N HCl und Eisessig zu 4-Nitrophenylalanin XIII



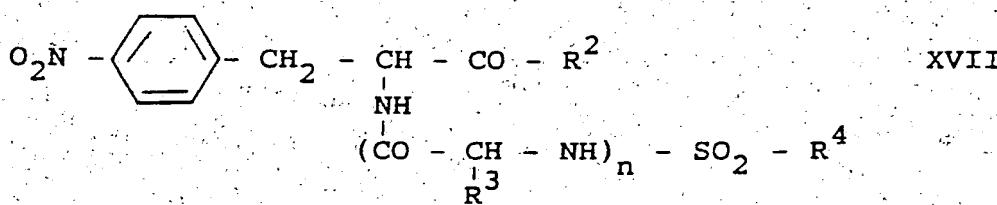
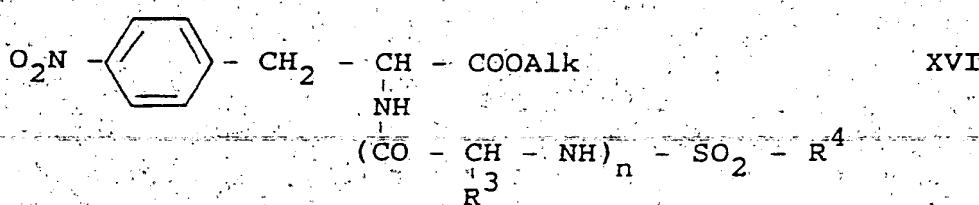
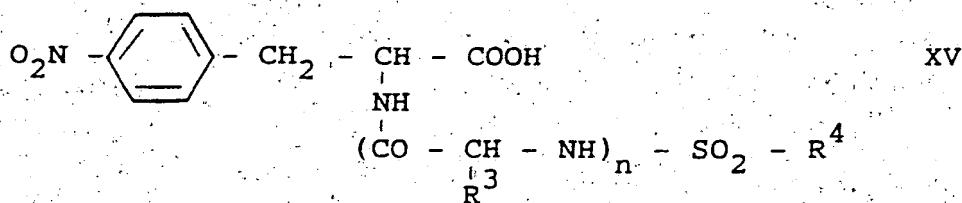
umgesetzt, dessen Veresterung mit einem niederen Alkohol, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von p-Toluolsulfonsäure, Schwefelsäure oder Chlorwasserstoff zum 4-Nitrophenylalaninalkylester XIV

- 16 -



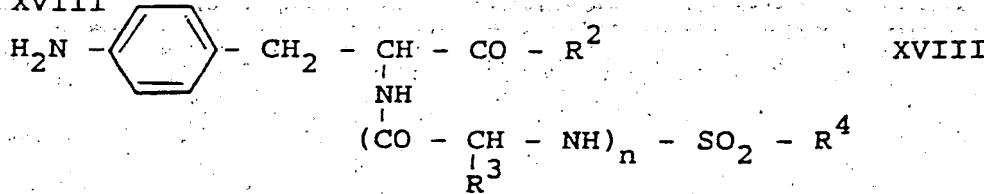
führt.

Die Verbindungen XV, XVI und XVII



werden auf die gleiche Weise erhalten wie die entsprechenden Cyanverbindungen V bis VII, wobei auch die Bedeutungen von n, R², R³ und R⁴ entsprechend sind.

Durch katalytische Hydrierung mittels beispielsweise Raney-Nickel/Wasserstoff in einem geeigneten Lösungsmittel werden aus XVII die Aminoverbindungen der allgemeinen Formel XVIII



erhalten, die mittels eines geeigneten Guanylierungsreagens, beispielsweise 1-Amidino-3,5-dimethyl-pyrazol-nitrat, zu den Guanidinoverbindungen der allgemeinen Formel I mit R¹ = Guanidino (b) umgesetzt werden.

Verbindungen mit der allgemeinen Formel I mit R¹ = Guanidino (b), Oxamidino (c), Aminomethyl (d) bzw. Amino (e) und einem t-Butoxy-Rest (R⁹) im Substituenten R² können

- 17 -

durch Hydrolyse mit Trifluoressigsäure in Verbindungen mit Carbonsäurestruktur ($R^9 = OH$) übergeführt werden, die anschliessend durch Veresterung mit niederen Alkoholen, vorzugsweise Methanol, in Gegenwart von Chlorwasserstoff oder p-Toluolsulfonsäure zu Verbindungen mit Carbonsäureesterstruktur ($R^9 = Alkoxy$) umgesetzt werden können.

Die biologische Aktivität der erfindungsgemässen Verbindungen wurde sowohl in vitro als auch in vivo bestimmt. Zur Charakterisierung der Inhibitoraktivität in vitro wurden die Dissoziationskonstanten K_i für die Hemmung von Trypsin bzw. der verwandten Enzyme Thrombin, Plasmin, Faktor X_a , tPA, glanduläres Kallikrein, Faktor XII_a und Plasmakallikrein nach der Formel

$$K_i = \frac{[E] \cdot [I]}{[EI]}$$

in welcher [E] die Konzentration an freiem Enzym, [I] die Konzentration an freiem Inhibitor und [EI] die Konzentration an Enzym-Inhibitor-Komplex bezeichnen, gemessen (Dixon, Biochem. J. 55, 170-173, 1953). Je kleiner der K_i -Wert für ein geprüftes Enzym ist, desto grösser ist die Affinität des Inhibitors für das Enzym und desto kleiner ist die zur Hemmung des Enzyms, z.B. Thrombin, benötigte Menge Inhibitor.

In vitro wurden verschiedene Gerinnungstests benutzt, um die Wirksamkeit der Hemmstoffe gegenüber der durch Thrombin ausgelösten Gerinnung seines natürlichen Substrates Fibrinogen zu bestimmen. Dazu wurde in Human-Plasma die Thrombinzeit (TT), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (aPTT) und die Prothrombinzeit (PT, Quickwert) bestimmt.

Die Toxizität der erfindungsgemässen Verbindungen wurde durch Bestimmung der LD_{50} (= Dosis, die bei 50% der Versuchstiere während einer Beobachtungsdauer von einer Woche zum Tode führt) an der Maus nach intravenöser bzw.

- 18 -

peroraler Verabreichung ermittelt.

Zur pharmakokinetischen Charakterisierung wurde die Plasmakonzentration ausgewählter Derivate nach subkutaner (s.c.) und peroraler (p.o.) Applikation an Ratten nach folgendem dreistufigem Verfahren bestimmt:

1. Eine Lösung der zu prüfenden Substanz in physiologischer Kochsalzlösung wurde der Flüssigkeits-Hochdruckchromatographie (HPLC = high pressure liquid chromatography) unterworfen, um den für die zu prüfende Substanz charakteristischen Peak bei der unter den gewählten Versuchsbedingungen substanzspezifischen Retentionszeit zu ermitteln.
2. Die zu prüfende Substanz wurde *in vitro* in Rattenplasma gelöst. Diese Lösung wurde ebenfalls der HPLC unterworfen, um festzustellen, ob der für die Substanz charakteristische Peak bei der substanzspezifischen Retentionszeit erneut erscheinen würde.
3. Die zu prüfende Substanz wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und in einer Dosis von 5 bzw. 100 mg pro kg Körpergewicht s.c. bzw. p.o. an Ratten verabreicht. In Zeitintervallen von 15 Minuten wurden Blutproben entnommen, aus denen durch Zentrifugation Plasmaproben hergestellt wurden, welche ihrerseits der HPLC unterworfen wurden, um festzustellen, ob der für die Substanz charakteristische Peak bei der substanzspezifischen Retentionszeit wiederum in Erscheinung treten würde.

- 19 -

LEGENDE ZU ZUSAMMENSTELLUNG

LS - Lösungsmittelsystem (siehe unten)
R_f - Retentionsfaktor, bei Angabe von 2
 R_f-Werten, Doppelfleckbildung durch
 Isomerie

Zur Durchführung der dünnssichtchromatographischen Untersuchungen wurden MERCK-Dünnschicht-Fertigplatten mit Kieselgel 60, F 254, als Beschichtung und die folgenden Lösungsmittelsysteme (LS) verwendet:

LS 1: organische Phase von Ethylacetat/Essigsäure/Wasser (4/1/2)

LS 2: Chloroform/Methanol/Essigsäure (40/4/1)

Sprühreagenzien: Ninhydrin - für primäre und sekundäre aliphatische Aminogruppen

4-Dimethylaminobenzaldehyd - für primäre aromatische Aminogruppen

Zur Durchführung der Säulenchromatographie zwecks Reinigung der Rohprodukte wurde Kieselgel 60 mit einer Korngrösse von 0,035 - 0,070 mm verwendet.

ABKÜRZUNGEN in Beispielen 1 - 11

TEA - Triethylamin
HOBT - 1-Hydroxybenzotriazol
DCC - Dicyclohexylcarbodiimid
NMM - 4-Methylmorpholin
DMF - Dimethylformamid
THF - Tetrahydrofuran
TFA - Trifluoressigsäure
HOSu - N-Hydroxysuccinimid
dc - dünnssichtchromatographisch

- 20 -

Beispiel 1

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-(D,L)-pipecolinsäure (8)

(4-Cyanbenzyl)-acetamino-malonsäure-diethylester (1)

10,0 g 4-Cyanbenzylbromid und 11,0 g Acetamino-malonsäure-diethylester wurden in 100 ml abs. Dioxan gelöst und unter Röhren eine Natriummethyatlösung (1,15 g Natrium/50 ml abs. Ethanol) zugetropft. Der Ansatz wurde 5 Stunden unter Rückfluss erhitzt, anschliessend ausgefallenes NaBr abfiltriert und das Filtrat bis zur beginnenden Kristallisation im Vakuum eingeengt. Es wurden 250 ml Wasser hinzugefügt, der Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 81%, Smp. 166-168°C.

4-Cyan-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (2)

12,0 g der Verbindung 1 wurden in einer Mischung aus 32 ml Eisessig und 64 ml 3 N HCl 6 Stunden unter Rückfluss erhitzt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert und der Rückstand getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde in Methanol gelöst und über einer Kolonne (Sephadex^R LH-20, Pharmacia) mit Methanol als Eluierungsmittel chromatographisch gereinigt. Ausbeute: 70%, Smp. 226-228°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (3)

11,5 g der Verbindung 2 wurden in 160 ml 1 N KOH gelöst, eine Lösung von 12,5 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 100 ml Ether zugegeben und die Mischung 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei nach etwa 1,5 Stunden das Kaliumsalz der Verbindung 3 auszukristallisieren begann. Anschliessend wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen,

- 21 -

unter Erwärmung in Wasser gelöst und mit 3 N HCl angesäuert, wobei die Verbindung 3 auskristallisierte. Es wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 60%, Smp. 184-186°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester (4)

1,35 g (D,L)-Piperolinsäure-ethylester und 0,8 g NMM wurden in 20 ml Ethylacetat gelöst, eine Lösung von 3,0 g des aus Verbindung 3 und Thionylchlorid erhaltenen Säurechlorids in 30 ml Ethylacetat zugetropft und der Ansatz 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 65%, Smp. 164-166°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (5)

2,0 g der Verbindung 4 wurden in einer Mischung aus je 20 ml Methanol und 1 N NaOH suspendiert und der Ansatz bis zur vollständigen Verseifung (dc Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels im Vakuum abdestilliert und die verbleibende Lösung mit 1 N HCl angesäuert. Das ausgefallene, amorphe Produkt wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 90%.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (6)

1,0 g der Verbindung 5 wurde in 15 ml Pyridin und 1 ml TEA gelöst, in die Lösung 10 Minuten H₂S eingeleitet und der Ansatz 48 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der

- 22 -

Rückstand in Ethylacetat aufgenommen und mit 1 N HCl ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 1 x mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das isolierte gelbe, amorphe Produkt wurde in der erhaltenen Form weiterverarbeitet. Ausbeute: 85%.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (7)

1,0 g der Verbindung 6 wurde in 20 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 3,0 g Methyl iodid versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt, wobei Verbindung 7 auszukristallisieren begann. Es wurde noch 24 Stunden im Kühlschrank stehengelassen, der Niederschlag abgesaugt, mit Aceton/Ether 1:1 gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 67%, Smp. 203-205°C (Zers.).

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (8)

0,6 g der Verbindung 7 wurden in 10 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,1 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethanol gelöst und Verbindung 8 mit Ether gefällt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. ab 185°C.

Beispiel 2

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenyl-alanyl-sarcosin und -methylester (15, 16)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycin (9)

Einer Lösung von 16,5 g Glycin in 440 ml 1 N NaOH wurde eine Lösung von 45 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 200 ml

- 23 -

Ether zugesetzt und das Reaktionsgemisch 4 Stunden intensiv bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die wässrige Phase mit 3 N HCl angesäuert, der ausgefallene Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 76%, Smp. 153-154°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (10)

10,0 g der Verbindung 2 wurden in 135 ml 1 N NaOH gelöst, eine Lösung von 11,0 g des aus Verbindung 9 und Thionylchlorid erhaltenen (2-Naphthylsulfonyl)-glycylchlorids in 120 ml Ethylacetat zugegeben und der Ansatz 3 Stunden intensiv gerührt. Anschliessend wurde eine geringe Menge unlösliches Nebenprodukt abfiltriert, die wässrige Phase mit 3 N HCl angesäuert und mit Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 1 x mit Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das Lösungsmittel weitestgehend abdestilliert. Der verbleibende Rückstand kristallisierte beim Anreiben mit Ether. Es wurden 50 ml Ether zugefügt, der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 68%, Smp. 156-158°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-sarcosin-t-butylester (11)

0,61 g Sarcosin-t-butylester-hydrochlorid wurden in 4 ml DMF gelöst, die Lösung mit 0,74 ml NMM und einer Lösung von 1,6 g des aus der Verbindung 10, HOSu und DCC erhaltenen N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-Osu-esters in 20 ml THF versetzt und das Reaktionsgemisch 16 Stunden gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ethylacetat aufgenommen, die Lösung mit 10%iger Zitronensäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und Wasser gewaschen, über MgSO₄ getrocknet und das nach Abdestillieren des Lösungsmittels erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/

- 24 -

Methanol 95:5 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 55%, Smp. 134-136°C (aus Ethylacetat).

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalananyl-sarcosin-t-butylester (12)

1,0 g der Verbindung 11 wurde analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 89%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalananyl-sarcosin-t-butylester-hydroiodid (13)

0,85 g des Thioamids 12 wurden in 15 ml Aceton gelöst, 1,5 g Methyliodid zugefügt und die Lösung 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt, wobei Verbindung 13 auskristallisierte. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Aceton/Ether 1:1 gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 94%, Smp. ab 136°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalananyl-sarcosin-t-butylester-hydroiodid (14)

0,85 g der Verbindung 13 wurden in 15 ml Methanol gelöst, 0,16 g Ammoniumacetat zugefügt und analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 88%, amorphes Pulver.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalananyl-sarcosin-hydrochlorid (15)

0,62 g der Verbindung 14 wurden in 3 ml TFA gelöst und 90 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der ölige Rückstand in 10 ml Methanol gelöst und die Lösung mit ethanolischer Ammoniaklösung auf pH 7,4 gebracht. Nach 12-stündigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde das auskristallisierte Betain von 15 abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet.

- 25 -

Zur Überführung in das Hydrochlorid wurde das Betain in 5 ml Methanol suspendiert, die Suspension mit einigen Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl angesäuert und Verbindung 15 aus der erhaltenen Lösung mit Ether ausgefällt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 64%, Smp. ab 170°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenyl-alanyl-sarcosin-methylester-hydrochlorid (16)

0,2 g der Verbindung 15 wurden in 4 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 30 Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Durch Zugabe von Ether wurde Verbindung 16 aus der Reaktionslösung ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 89%, Smp. ab 120°C.

Beispiel 3

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenyl-alanyl-(D,L)-pipecolinsäure (21)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester (17)

1,5 g (D,L)-Pipecolinsäure-ethylester wurden in 10 ml THF gelöst, 1,4 g HOBT zugefügt und der Ansatz auf 0°C abgekühlt. Nach Zugabe einer Lösung von 3,0 g der Verbindung 10 in 25 ml THF sowie 1,71 g DCC wurde über Nacht gerührt. Anschliessend wurde das ausgefallene Harnstoffderivat abfiltriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in Ethylacetat aufgenommen, die Lösung mit Wasser, 10%iger Zitronensäure, gesättigter NaHCO₃-Lösung und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über MgSO₄ getrocknet. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde das Rohprodukt säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 63%,

- 26 -

amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (18)

2,4 g der Verbindung 17 wurden in einer Mischung aus je 25 ml 1 N NaOH und Methanol gelöst und bis zur vollständigen Verseifung (dc Kontrolle) bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurden etwa 30 ml Lösungsmittel abdestilliert, die verbleibende Lösung mit 3 N HCl angesäuert, 100 ml Wasser zugefügt und der gebildete Niederschlag nach mehrstündigem Stehen im Kühlschrank abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/Methanol 90:10 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 77%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (19)

1,7 g der Verbindung 18 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 94%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarboxylyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (20)

1,7 g der Verbindung 19 wurden in 40 ml Aceton gelöst, 6,0 g Methyliodid zugesetzt und die Lösung 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz stehengelassen. Anschliessend wurden 50 ml Ether zugefügt, wobei Verbindung 20 zunächst ölig anfiel. Nach Abgiessen des überstehenden Lösungsmittels und Durcharbeiten mit Ether konnte ein festes, amorphes Produkt erhalten werden. Ausbeute: 76%.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydroiodid (21)

- 27 -

1,6 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 20 wurden in 15 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,28 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 30 ml Methanol gelöst und Verbindung 21 mit Ethylacetat ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ethylacetat und Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 75%, Smp. 197-201°C.

Beispiel 4

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure und -methylester (26, 27)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-ethylester (22)

3,0 g der Verbindung 10 wurden in 30 ml THF gelöst und die Lösung mit 0,7 g NMM versetzt, wobei das NMM-Salz von Verbindung 10 ausfiel. Nach Zugabe von 30 ml DME wurde unter Röhren auf -4°C abgekühlt, der Suspension 0,98 g Chlorameisensäure-isobutylester zugesetzt und 30 Minuten bei -4°C gerührt. Danach wurde eine Lösung von 1,62 g Isonipecotinsäure-ethylester in 20 ml THF zugesetzt, weitere 60 Minuten bei -4°C gerührt und dies bei Raumtemperatur über Nacht fortgesetzt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert und der Rückstand mit Methanol angerieben, wobei Kristallisation eintrat. Es wurden 50 ml 50%iges Methanol zugefügt, abgesaugt und aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Ausbeute: 68%, Smp. 169-171°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (23)

2,5 g der Verbindung 22 wurden in einer Mischung aus je 25 ml 1 N NaOH und Methanol gelöst und 1 Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die Hälfte des

- 28 -

Lösungsmittels abdestilliert, die verbleibende Lösung mit 1 N HCl angesäuert und 150 ml Wasser zugesetzt. Nach mehrstündigem Stehen wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 92%, Smp. ab 110°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (24)

2,1 g der Verbindung 23 wurden in 20 ml Pyridin und 2 ml TEA gelöst und analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Das erhaltene feste Produkt wurde in 20 ml Methanol suspendiert, abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, Smp. 234-237°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarboxyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-hydroiodid (25)

1,2 g der Verbindung 24 wurden unter leichtem Erwärmen in 2 ml DMF gelöst, der Lösung 50 ml Aceton zugesetzt und filtriert. Das Filtrat wurde mit 4,0 g Methyl iodid versetzt und das Reaktionsgemisch 3 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde in 250 ml Ether gegossen, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 74%, amorphes Pulver.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-hydrochlorid (26)

0,8 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 25 wurden in 15 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,15 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt, wobei das Betain von 26 auskristallisierte. Nach mehrstündigem Stehen wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 80%, Smp. 235-242°C.

- 29 -

Die Überführung in das Hydrochlorid erfolgte in der unter 15 beschriebenen Weise. Ausbeute: 91%, Smp. ab 165°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipeptinsäure-methylester-hydrochlorid (27)

0,2 g der Verbindung 26 wurden in 5 ml abs. Methanol gelöst, 50 Tropfen 2 N Ethylacetat/HCl zugefügt und die Lösung 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde Verbindung 27 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, Smp. ab 145°C.

Beispiel 5

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -(D,L)-aspartyl- und β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid (35-37)

4-Cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (28)

20 g der Verbindung 2 wurden in 150 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung unter Eiskühlung mit 15 g konz. H_2SO_4 versetzt und 24 Stunden rückfliessend erhitzt. Anschliessend wurde das Methanol im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit 3 N NaOH alkalisiert und mit 500 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde 2 x mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der ölige Rückstand wurde in 20 ml Methanol gelöst und die Lösung mit methanolischer Salzsäure angesäuert, wobei Verbindung 28 bereits auszukristallisieren begann. Nach Zugabe von 400 ml Ether wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. 190-192°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-asparagine-säure (29)

- 30 -

1,0 g (D,L)-Asparaginsäure- β -t-butylester wurde in 35 ml 0,33 M Na₂CO₃-Lösung gelöst, eine Lösung von 1,42 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 15 ml Ether zugegeben und das Reaktionsgemisch 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei das Natriumsalz der Verbindung 29 ausfiel. Anschliessend wurden 100 ml Wasser zugefügt und der Niederschlag unter leichtem Erwärmen gelöst. Die erhaltene Lösung wurde 2 x mit je 50 ml Ether ausgeschüttelt, die wässrige Phase mit 1 N HCl angesäuert und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 66%, Smp. 138-140°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester (30)

2,77 g der Verbindung 28 wurden in 15 ml DMF gelöst, 1,28 ml NMM, 1,77 g HOBT und 2,27 g DCC sowie eine Lösung von 4,0 g der Verbindung 29 in 40 ml THF hinzugefügt und das Reaktionsgemisch über Nacht gerührt. Die Aufarbeitung und säulenchromatographische Reinigung erfolgte analog 17. Ausbeute: 85%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (31)

4,22 g der Verbindung 30 wurden in einer Mischung aus 35 ml Methanol und 15 ml 1 N NaOH suspendiert und der Ansatz 6 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die erhaltene Lösung mit 200 ml Wasser versetzt, mit 1 N HCl angesäuert und 10 Stunden stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 96%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-piperidid (32)

- 31 -

2,5 g der Verbindung 31 wurden in 30 ml THF gelöst, die Lösung nach Abkühlen auf -18°C mit 0,52 ml NMM und 0,62 ml Chlorameisensäure-isobutylester versetzt und 15 Minuten gerührt. Danach wurden 0,67 ml Piperidin zugegeben, weitere 90 Minuten bei -18°C und schliesslich bis zum Erreichen von Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte analog 11. Das erhaltene Rohprodukt wurde säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/Methanol 95:5 als Eluierungsmittel) gereinigt. Ausbeute: 86%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-piperidid (33)

0,6 g der Verbindung 32 wurden in 10 ml Pyridin und 1 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 92%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydroiodid (34)

0,58 g der Verbindung 33 wurden in 15 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 0,8 g Methyl iodid versetzt und 15 Minuten im Wasserbad unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde Verbindung 34 durch Zugabe von 100 ml Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydroiodid (35)

0,49 g der Verbindung 34 wurden in 10 ml abs. Ethanol mit 0,15 g Ammoniumacetat analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 86%, Smp. ab 128°C.

- 32 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydrochlorid (36)

2,0 g der Verbindung 35 wurden in 300 ml Ethylacetat suspendiert, die Suspension mit 40 ml 0,2 N NaOH versetzt und ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über Na_2SO_4 getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Die erhaltene freie Base von 35 wurde in 10 ml TFA gelöst, die Lösung 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und anschliessend das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde in 10 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und Verbindung 36 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 79%, Smp. ab 155°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-piperidid-hydrochlorid (37)

0,25 g der Verbindung 36 wurden analog 16 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 86%, Smp. ab 135°C.

Beispiel 6

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl und -(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (40, 41)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin (38)

0,7 g der Verbindung 31 wurden in 10 ml Pyridin und 1 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 93%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-hydroiodid (39)

- 33 -

0,7 g der Verbindung 38 wurden analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 99%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (40)

0,86 g des Thioimidsäureester-hydroiodids 39 wurden in 10 ml Methanol mit 0,3 g Ammoniumacetat analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Das anfallende Hydroiodid wurde in das Hydrochlorid übergeführt, indem die Verbindung in 5 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml methanolischer Salzsäure versetzt und das Hydrochlorid sofort mit Ether gefällt wurde. Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 59%, Smp. ab 168°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-hydrochlorid (41)

0,3 g der Verbindung 40 wurden in 4 ml TFA gelöst und 5 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 5 ml Ethanol gelöst, der Lösung 0,5 ml 2 N Ethylacetat/HCl zugefügt und Verbindung 41 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 70%, Smp. ab 112°C.

Beispiel 7

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -(D,L)-aspartyl- und - β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester (44-46)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-methylester (42)

- 34 -

1,5 g der Verbindung 30 wurden in 15 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 89%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydroiodid (43)

1,56 g der Verbindung 42 und 2,0 g Methyliodid wurden in 30 ml Aceton analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 78%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydroiodid (44)

1,5 g der Verbindung und 0,5 g Ammoniumacetat wurden in 10 ml Methanol analog 8 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 76%, Smp. ab 126°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (45)

0,9 g der Verbindung 44 wurden in 200 ml Ethylacetat suspendiert, die Suspension mit 20 ml 0,2 N NaOH versetzt und ausgeschüttelt. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über $MgSO_4$ getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert, wobei 0,7 g der freien Base von 44 erhalten wurden. Man löste die Verbindung in 7 ml TFA, rührte 2 Stunden bei Raumtemperatur und destillierte anschliessend das Lösungsmittel ab. Der Rückstand wurde in 8 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 1 ml 2 N Ethylacetat/HCl versetzt und Verbindung 45 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 77%, Smp. ab 78°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-methylester-hydrochlorid (46)

- 35 -

0,25 g der Verbindung 45 wurden in 5 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 50 Tropfen 2, N methanolischer Salzsäure versetzt und der Ansatz 20 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Anschliessend wurde Verbindung 46 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. ab 84°C.

Beispiel 8

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalananyl-(D)-prolin-t-butylester (53)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucin (47)

5,0 g (D,L)-Leucin wurden in 200 ml 0,42 M Natriumcarbonatlösung gelöst, eine Lösung von 10,4 g 2-Naphthylsulfonylchlorid in 150 ml Ether zugesetzt und der Ansatz 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei das Natriumsalz der Verbindung 47 ausfiel. Anschliessend wurde der Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und unter Erwärmung in Wasser gelöst. Die Lösung wurde mit 1 N HCl angesäuert, der gebildete Niederschlag nach mehrstündigem Stehen abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 52%, Smp. 103-104°C (aus Ethylacetat/Hexan).

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-methylester (48)

3,3 g der Verbindung 28, 1,56 ml NMM und 2,16 g HOBT wurden in 10 ml DMF gelöst, die Lösung auf 0°C abgekühlt und unter Röhren mit einer Lösung von 4,1 g der Verbindung 47 in 30 ml THF sowie 2,77 g DCC versetzt. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde analog 17 aufgearbeitet. Ausbeute: 97%, Smp. 105-107°C (aus Ethylacetat/Hexan).

- 36 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin (49)

6,3 g der Verbindung 48 wurden in 50 ml Methanol gelöst, 25 ml 1 N NaOH zugefügt und bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt (dc Kontrolle). Die Aufarbeitung und säulenchromatographische Reinigung erfolgte analog 18. Ausbeute: 61%, Smp. 146-148°C (aus Methanol/Wasser).

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (50)

0,68 g (D)-Prolin-t-butylester, 0,67 g HOBT, 0,82 g DCC und 1,78 g der Verbindung 49 in 25 ml THF wurden analog 17 umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform/Methanol 97:3 als Eluierungsmittel). Ausbeute: 85%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (51)

1,0 g der Verbindung 50 wurde analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 95%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester-hydroiodid (52)

1,0 g der Verbindung 51 und 1,1 g Metyliodid wurden in 20 ml Aceton analog 34 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 60%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester-hydroiodid (53)

0,67 g der Verbindung 52 wurden in 10 ml Methanol gelöst,

- 37 -

die Lösung mit 0,1 g Ammoniumacetat versetzt und der Ansatz 3 Stunden bei 60°C im Wasserbad erwärmt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in wenig Methanol gelöst und Verbindung 53 mit Ether ausgefällt. Ausbeute: 65%, Smp. ab 150°C.

Beispiel 9

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (57)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-cyan-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (54)

0,9 g 4-Methylpiperidin, 1,4 g HOBT, 1,71 g DCC und 1,94 g der Verbindung 10 wurden in 35 ml THF analog 17 umgesetzt und aufgearbeitet. Die Reinigung erfolgte säulenchromatographisch über Kieselgel 60 (Chloroform als Eluierungsmittel). Ausbeute: 84%, Smp. 202-203°C (aus Ethylacetat/ Hexan).

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (55)

1,85 g der Verbindung 54 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet, wobei ein festes Produkt erhalten wurde. Es wurden 25 ml Methanol zugefügt, Verbindung 55 abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 95%, Smp. 235-236°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid-hydroiodid (56)

1,8 g des Thioamids 55 wurden unter Erwärmen in 3 ml DMF gelöst, 100 ml Aceton und 6 g Methyl iodid zugefügt und der Ansatz 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt. Anschliessend wurde in 250 ml Ether gegossen,

- 38 -

der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, amorphes Pulver.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid-hydroiodid (57)

1,2 g der Verbindung 56 wurden in 30 ml Méthanol gelöst, die Lösung mit 0,21 g Ammoniumacetat versetzt und 3 Stunden im Wasserbad bei 60°C erwärmt, wobei schon nach kurzer Zeit ein Niederschlag ausfiel, der sich allmählich wieder löste. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in abs. Ethanol gelöst und Verbindung 57 mit Ether ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 78%, Smp. 198-204°C (vorher Sintern).

Beispiel 10

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure und -methylester (62, 63)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure-methylester (58)

2,2 g (D,L)-1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure-methylester und 1,1 g NMM wurden in 20 ml Ethylacetat gelöst, dem Reaktionsansatz eine Lösung von 4,0 g des aus Verbindung 3 und Thionylchlorid erhaltenen Säurechlorids in 50 ml Ethylacetat zugesetzt und 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde das Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in 20 ml Methanol gelöst und zur Kristallisation stehengelassen. Der gebildete Niederschlag wurde abgesaugt, mit Methanol gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 65%, Smp. 169-173°C.

- 39 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-cyan-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure (59)

2,0 g der Verbindung 58 wurden in einer Mischung aus je 20 ml 1 N NaOH und Methanol suspendiert und bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt, wobei schon nach kurzer Zeit eine klare Lösung erhalten wurde. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert, 100 ml Wasser zugesetzt und mit 1 N HCl angesäuert. Nach mehrstündigem Stehen wurde der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 93%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure (60)

1,3 g der Verbindung 59 wurden in 20 ml Pyridin und 1,5 ml TEA analog 6 umgesetzt und aufgearbeitet. Ausbeute: 98%, amorphes Produkt.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-S-methyliminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure-hydroiodid (61)

1,3 g des Thioamids 60 wurden in 20 ml Aceton gelöst, die Lösung mit 4,0 g Methyl iodid versetzt und 16 Stunden bei Raumtemperatur unter Lichtschutz aufbewahrt. Anschliessend wurde in 200 ml Ether gegossen, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 86%, amorphes Pulver.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure-hydrochlorid (62)

- 40 -

1,14 g der Verbindung 61 wurden in 40 ml Methanol gelöst, die Lösung mit 0,19 g Hydroxylammoniumacetat versetzt und der Reaktionsansatz 20 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde eine Lösung von 0,145 g NaHCO₃ in 5 ml Wasser zugegeben, etwa 20 ml Lösungsmittel abdestilliert und 50 ml Wasser zugefügt. Nach 3-tägigem Aufbewahren im Kühlschrank wurde das auskristallisierte Betain von Verbindung 62 abgesaugt, mit Wasser gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 64%, Smp. 162-178°C.

Die Überführung in das Hydrochlorid erfolgte wie unter 15 beschrieben. Ausbeute: 92%, Smp. ab 165°C.

N-α-(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure-methyl-ester-hydrochlorid (63)

0,3 g der Verbindung 62 wurden in 7,5 ml abs. Methanol gelöst, 40 Tropfen 3 N methanolische Salzsäure zugefügt und der Ansatz 30 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert, Verbindung 63 mit Ether ausgefällt, abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 86%, Smp. ab 90°C.

Beispiel 11

N-α-(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (65) sowie -ethyl- (64) und -methyl-ester (66)

N-α-(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester-hydrochlorid (64)

2,0 g der Verbindung 4 wurden in einer Mischung aus je 15 ml Dioxan und Methanol gelöst, 20 ml ethanolische Ammoniaklösung zugefügt und in Gegenwart von Raney-Nickel-Katalysator unter Normalbedingungen hydriert. Nach

- 41 -

vollständiger Hydrierung (dc Kontrolle) wurde vom Katalysator abfiltriert, das Lösungsmittel abdestilliert und der ölige Rückstand in wenig Ethanol aufgenommen. Die erhaltene Lösung wurde mit 2 N Ethylacetat/HCl angesäuert und Verbindung 64 mit Ether ausgefällt, wobei das Produkt erst nach längerem Stehen fest wurde. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 58%, Smp. ab 115°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-hydrochlorid (65)

1,14 g der Verbindung 64 wurden in einer Mischung aus je 12 ml 1 N NaOH und Methanol suspendiert und der Ansatz bis zur vollständigen Verseifung bei Raumtemperatur gerührt. Anschliessend wurde die erhaltene Lösung mit 3 N HCl angesäuert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Zur Entfernung von restlichem Wasser wurde 2 x mit Isopropanol/Toluol 1:1 kodestilliert. Der feste Rückstand wurde mit 40 ml abs. Ethanol extrahiert, von ungelöstem NaCl abfiltriert und Verbindung 65 aus dem Filtrat nach Einengen auf etwa 10 ml mit Ether gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 75%, Smp. ab 155°C.

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester-hydrochlorid (66)

0,32 g der Verbindung 65 wurden in 10 ml abs. Methanol gelöst, die Lösung mit 2 ml 3 N methanolischer Salzsäure versetzt und 20 Stunden bei Raumtemperatur stehengelassen. Anschliessend wurde Verbindung 66 durch Zugabe von Ether ausgefällt, der gebildete Niederschlag abgesaugt, mit Ether gewaschen und getrocknet. Ausbeute: 85%, Smp. ab 130°C.

- 42 -

ZUSAMMENSTELLUNG VON
ELEMENTARANALYSEN- und DC-DATEN

NR.	FORMEL	M.G.	C	H	N	S	DC R_f (LS)
3	$C_{20}H_{16}N_2O_4S$	380.426	Ber. 63.15 Gef. 63.40	4.24 4.48	7.36 7.66	8.43 8.30	0.32(2)
4	$C_{28}H_{29}N_3O_5S$	519.625	Ber. 64.76 Gef. 64.46	5.63 5.85	8.09 8.09	6.17 6.45	0.83(2)
5	$C_{26}H_{25}N_3O_5S \cdot H_2O$	509.587	Ber. 61.28 Gef. 61.17	5.34 5.01	8.24 8.11	6.29 6.66	0.56 0.53(2)
8	$C_{26}H_{29}N_4O_5S \cdot HI$	636.515	Ber. 49.06 Gef. 49.48	4.59 4.92	8.80 9.01	5.04 5.28	0.39(1)
10	$C_{22}H_{18}N_3O_5S$	436.471	Ber. 60.54 Gef. 60.27	4.16 4.31	9.63 9.23	7.35 7.48	0.12(2)
11	$C_{29}H_{34}N_4O_5S$	566.683	Ber. 61.47 Gef. 61.93	6.05 5.96	9.89 9.73	5.66 5.67	0.65(2)
15	$C_{25}H_{27}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	580.067	Ber. 51.77 Gef. 51.31	5.21 5.50	12.07 11.81	5.53 5.40	0.17(1)
16	$C_{26}H_{29}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	594.094	Ber. 52.57 Gef. 52.03	5.43 5.74	11.79 11.56	5.40 5.52	0.27(1)
17	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Ber. 62.48 Gef. 62.48	5.59 5.86	9.72 9.68	5.56 5.80	0.79(2)
18	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Ber. 61.30 Gef. 61.11	5.14 5.46	10.21 10.14	5.84 5.75	0.50 0.39(2)
21	$C_{28}H_{32}N_5O_6S \cdot HI$	693.568	Ber. 48.49 Gef. 48.83	4.65 4.88	10.10 10.43	4.62 4.93	0.24(1)
22	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Ber. 62.48 Gef. 62.24	5.59 5.88	9.72 10.04	5.56 5.60	0.75(2)
23	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Ber. 61.30 Gef. 61.14	5.14 5.23	10.21 9.81	5.84 6.20	0.49(2)
26	$C_{28}H_{31}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	620.132	Ber. 54.23 Gef. 54.04	5.53 5.48	11.29 11.12	5.17 5.02	0.20(1)

- 43 -

NR	FORMEL	M.G.		C	H	N	S	^{DC} _{R_f(LS)}
27	$C_{29}H_{33}N_5O_6S \cdot HCl \cdot H_2O$	634.159	Ber. Gef.	54.93 54.76	5.72 5.83	11.04 11.04	5.06 4.96	0.25(1)
29	$C_{18}H_{21}NO_6S$	379.437	Ber. Gef.	56.98 56.49	5.58 5.38	3.69 3.67	8.45 8.51	0.40(2)
30	$C_{29}H_{31}N_3O_7S$	565.652	Ber. Gef.	61.58 61.48	5.52 5.90	7.43 7.68	5.67 5.64	0.78(2)
31	$C_{28}H_{29}N_3O_7S \cdot H_2O$	569.641	Ber. Gef.	59.04 58.76	5.49 5.25	7.38 7.26	5.63 5.86	0.27(2)
32	$C_{33}H_{38}N_4O_6S$	618.759	Ber. Gef.	64.06 63.78	6.19 6.41	9.05 8.92	5.18 5.30	0.79(2)
35	$C_{33}H_{41}N_5O_6S \cdot HI \cdot H_2O$	781.719	Ber. Gef.	50.70 50.31	5.67 5.64	8.96 9.07	4.10 4.40	0.43(1)
36	$C_{29}H_{33}N_5O_6S \cdot HCl$	616.143	Ber. Gef.	56.53 56.94	5.56 5.829	11.37 11.21	5.20 5.44	0.23(1)
37	$C_{30}H_{35}N_5O_6S \cdot HCl$	630.170	Ber. Gef.	57.18 57.49	5.76 5.72	11.11 11.03	5.09 5.41	0.32(1)
40	$C_{28}H_{32}N_4O_7S \cdot HCl$	605.117	Ber. Gef.	55.58 54.91	5.50 5.44	9.26 9.55	5.30 5.76	0.33(1)
41	$C_{24}H_{24}N_4O_7S \cdot HCl \cdot H_2O$	576.033	Ber. Gef.	50.05 50.07	4.90 5.09	9.73 9.84	5.57 5.53	0.18(1)
44	$C_{29}H_{34}N_4O_7S \cdot HI$	710.596	Ber. Gef.	49.02 49.26	4.96 5.14	7.88 7.78	5.41 4.92	0.53(1)
45	$C_{25}H_{26}N_4O_7S \cdot HCl$	563.036	Ber. Gef.	53.33 53.42	4.83 4.61	9.95 9.75	5.69 5.63	0.31(1)
46	$C_{26}H_{28}N_4O_7S \cdot HCl$	577.063	Ber. Gef.	54.21 53.76	4.90 5.05	9.73 9.91	5.57 5.95	0.41(1)
47	$C_{16}H_{19}NO_4S$	321.399	Ber. Gef.	59.79 59.77	5.96 5.89	4.36 4.64	9.98 9.89	0.48(2)
48	$C_{27}H_{29}N_3O_5S$	507.614	Ber. Gef.	63.89 63.84	5.76 5.90	8.28 8.15	6.32 6.39	0.73(2)
49	$C_{26}H_{27}N_3O_5S$	493.587	Ber. Gef.	63.27 62.29	5.51 5.54	8.51 8.40	6.50 6.61	0.30(2)
50	$C_{35}H_{42}N_4O_6S$	646.813	Ber. Gef.	65.00 65.20	6.55 6.84	8.66 8.54	4.96 5.39	0.79(2)

- 44 -

NR.	FORMEL	M.G.		C	H	N	S	<u>DC</u> R _f (LS)
53	C ₃₅ H ₄₅ N ₅ O ₆ S·HI	791.757	Ber.	53.10	5.86	8.85	4.05	0.46(1)
			Gef.	52.93	5.99	8.71	4.22	
54	C ₂₈ H ₃₀ N ₄ O ₄ S	518.640	Ber.	64.84	5.83	10.80	6.18	0.79(2)
			Gef.	65.00	6.15	11.28	6.40	
57	C ₂₈ H ₃₃ N ₅ O ₄ S·HI	663.584	Ber.	50.68	5.16	10.55	4.83	0.53(1)
			Gef.	50.37	5.21	10.35	5.20	
58	C ₃₁ H ₂₇ N ₃ O ₅ S	553.642	Ber.	67.25	4.92	7.59	5.79	0.83(2)
			Gef.	67.44	5.13	7.72	5.44	
59	C ₃₀ H ₂₅ N ₃ O ₅ S ·H ₂ O	557.631	Ber.	64.62	4.88	7.54	5.75	0.56(2)
			Gef.	65.08	5.12	7.87	5.45	0.52
62	C ₃₀ H ₂₈ N ₄ O ₆ S·HCl ·H ₂ O	627.123	Ber.	57.46	5.13	8.93	5.11	0.65(1)
			Gef.	57.22	5.17	8.67	5.40	
63	C ₃₁ H ₃₀ N ₄ O ₆ S·HCl ·H ₂ O	641.150	Ber.	58.07	5.19	8.74	5.00	0.83(1)
			Gef.	58.05	5.09	8.37	5.16	
64	C ₂₈ H ₃₃ N ₃ O ₅ S·HCl ·H ₂ O	578.134	Ber.	58.17	6.28	7.27	5.55	0.33(1)
			Gef.	57.90	6.03	7.05	5.82	
65	C ₂₆ H ₂₉ N ₃ O ₅ S·HCl ·H ₂ O	550.080	Ber.	56.77	5.86	7.64	5.83	0.27(1)
			Gef.	56.86	5.83	7.44	6.10	
66	C ₂₇ H ₃₂ N ₃ O ₅ S·HCl	564.107	Ber.	57.49	6.08	7.45	5.68	0.34(1)
			Gef.	57.43	5.74	7.38	5.92	

- 45 -

Übersicht weiterer, gemäss den vorher angegebenen Herstellungsverfahren synthetisierten Verbindungen, die nicht in den Beispielen 1-11 aufgeführt sind:

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- γ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin. (68)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- γ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperidid (69)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-asparagyl-4-amidino-(D,L)-phenyl-alanyl-(D)-prolin-t-butylester (70)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)- β -t-butoxy-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-prolin (71)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-glutaminyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (72)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (73)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin (74)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin-methylester (75)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycin-t-butylester (76)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carbonsäure (77)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure (78)

- 46 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester (79)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methylpiperidid (80)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (81)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin (82)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (83)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (84)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (85)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (86)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperid-2-on-3-carbonsäure (87)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolinsäure (88)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (89)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (90)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (91)

- 47 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (92)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure (93)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-methylester (94)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (95)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (96)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanin-4-methylpiperidid (97)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-ethylester (98)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure (99)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-methylester (100)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipecotinsäure-n-butylester (101)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolinsäure-ethylester (102)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-pipecolinsäure-n-butylester (103)

- 48 -

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-ethylester (104)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure (105)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-methylester (106)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotinsäure-n-butylester (107)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-methylester (108)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure (109)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-ethylester (110)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure-n-butylester (111)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-4-methylpiperidid (112)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-prolin-t-butylester (113)

N- α -(2-Naphthylsulfonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-prolin (114)

- 49 -

Als Beispiele der allgemeinen Formel I mit para-ständiger basischer Gruppierung ($R^1 = (a)$ bis (e)) sind, sofern sie nicht bereits aufgeführt wurden, zu nennen:

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidine
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonylpiperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glycyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidine
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonylpiperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester

- 50 -

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-alanyl-
bzw. -S-alanyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrroli-
dide

phenylalanin-alkyl-. hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidine

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-
-piperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-leucyl-

- 51 -

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonylpiperazide
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-, -aralkyl- und -arylester
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-aspartyl- bzw. -8-alkoxy-aspartyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonylpiperazide
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-, -aralkyl- und -arylester
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

- 52 -

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-asparaginyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidide
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-piperazide

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester

phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester

phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glutamyl-
bzw. γ -alkoxy-glutamyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester

phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrrolidide

phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-piperazide

- 53 -

phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

N- α -(Tosyl)- bzw. (1- oder 2-Naphthylsulfonyl)-glutaminyl-

phenylalanin-alkyl-, aralkyl- und arylester
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-pyrroli-
dide
phenylalanin-alkyl-, hydroxyalkyl- bzw. hydroxy-piperidine
phenylalanin-N-alkyl-, N-aryl- bzw. N-alkoxycarbonyl-
-piperazide
phenylalanyl-prolin und -hydroxyprolin sowie -alkyl-,
-aralkyl- und -arylester
phenylalanyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäure und deren
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-alkyl-piperidin-2-, 3- oder 4-carbonsäuren
und deren -alkyl-, -aralkyl-, bzw. -arylester
phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure
und -alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydroisochinolin-3-carbonsäure und
-alkyl-, -aralkyl- bzw. -arylester
phenylalanyl-decahydrochinolin-4-carbonsäure und -alkyl-,
-aralkyl- bzw. -arylester

Die aufgeführten Verbindungen können als Racemate
sowie nach entsprechender Trennung als reine Enantiomere
bzw. Diastereomere vorliegen.

- 54 -

Im folgenden sind die biologischen Eigenschaften von repräsentativen erfindungsgemässen Verbindungen aufgeführt:

In Tabelle 1 ist die Hemmung der Gerinnungsenzyme Thrombin und Trypsin anhand der Dissoziationskonstante K_i (ausgedrückt in $\mu\text{mol/l}$) durch die genannten Verbindungen angegeben. Alle untersuchten Verbindungen hemmen die durch beide Enzyme bewirkte Substratspaltung kompetitiv. Unter den in Tabelle 1 aufgeführten Derivaten des 4-Amidinophenylalanins finden sich eine Reihe von Verbindungen mit hoher Antithrombinaktivität, d. h. mit K_i -Werten unter 1 $\mu\text{mol/l}$. Die Thrombinhemmung ist vergleichsweise stärker als die Hemmung von Trypsin. Die K_i -Werte für die Hemmung von Trypsin liegen gewöhnlich 1 bis 2 Größenordnungen höher als die für die Thrombinhemmung.

Die Verbindungen, die sich vom 4-Oxamidinophenylalanin und 4-Aminomethylphenylalanin ableiten, bewirken geringere Antithrombin-Aktivität, einige von ihnen haben aber brauchbare K_i -Werte für die Thrombin-Hemmung im micromolaren Bereich.

Kurzbezeichnungen in Tabellen 1 und 2:

für R^1 , Am = Amidino, Ox = Oxamidino, AMe = Aminomethyl

für R^2 , Ppd = Piperidid, Ppd(4-Me) = 4-Methylpiperidid, OH = Carbonsäure, OMe = Methylester, OEt = Ethylester, OnBu = n-Butylester, OtBu = t-Butylester, Pro = Prolin, Pip-OH = Pipecolinsäure, iNip-OH = Isonipeptinsäure, Nip-OH = Nipecotinsäure, Sar-OH = Sarcosin, Tic-OH = 1,2,3,4-Tetrahydroisochinolin-3-carbonsäure, Phg-OH = Phenylglycin, Pip(4-Me)-OH = 4-Methyl-D,L-pipecolinsäure, 2-Ppn-3-COOH = piperid-2-on-3-carbonsäure

für R^4 , Na = 2-Naphthyl

- 55 -

Tabelle 1

Hemmung von Thrombin und Trypsin durch Na-geschützte 4-substituierte
Phenylalaninderivate

Ver-	bindung	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	K _i [μmol/l]	
							Thrombin	Trypsin
	NAPAP	Am	Ppd	1	H	Na	0,006	0,69
36	Am	Ppd		1	CH ₂ CO-OH	Na	0,45	7,5
41	Am	OH		1	CH ₂ CO-OH	Na	640	300
45	Am	OMe		1	CH ₂ CO-OH	Na	60	107
37	Am	Ppd		1	CH ₂ CO-OMe	Na	0,24	5,9
46	Am	OMe		1	CH ₂ CO-OMe	Na	7,1	27
35	Am	Ppd		1	CH ₂ CO-OtBu	Na	0,47	12
40	Am	OH		1	CH ₂ CO-OtBu	Na	17	66
44	Am	OMe		1	CH ₂ CO-OtBu	Na	3,8	46
70	Am	D-Pro-OtBu		1	CH ₂ CO-NH ₂	Na	0,51	85
69	Am	Ppd		1	(CH ₂) ₂ CO-OtBu	Na	0,53	3,4
53	Am	D-Pro-OtBu		1	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Na	0,56	55
57	Am	Ppd(4-Me)		1	H	Na	0,0016	0,06
26	Am	iNip-OH		1	H	Na	2,0	2,6
27	Am	iNip-OMe		1	H	Na	0,29	0,71
15	Am	Sar-OH		1	H	Na	5,9	6,5
16	Am	Sar-OMe		1	H	Na	0,19	0,9
21	Am	D,L-Pip-OH		1	H	Na	1,4	4,3
80	Ox	Ppd(4-Me)		1	H	Na	48	230
8	Am	D,L-Pip-OH	0	-	-	Na	5,8	34
83	Am	Ppd(4-Me)	0	-	-	Na	0,34	10,4
84	Am	iNip-OH	0	-	-	Na	170	160
85	Am	iNip-OMe	0	-	-	Na	3,2	3,1
89	Am	Nip-OH	0	-	-	Na	34	120
90	Am	Nip-OMe	0	-	-	Na	0,68	16

- 56 -

Tab. 1 (Fort.)

Ver-	bindung	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	K_i [$\mu\text{mol/l}$]	
							Thrombin	Trypsin
	113	AMe	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	11
	106	AMe	iNip-OH	0	-	Na	140	62
	107	AMe	iNip-OMe	0	-	Na	33	2,2
	100	AMe	Nip-OH	0	-	Na	50	41
	101	AMe	Nip-OMe	0	-	Na	3,9	30
	65	AMe	D,L-Pip-OH	0	-	Na	47	160
	66	AMe	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	1,3	82
	109	AMe	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	42	140
	110	AMe	D,L-Tic-OH	0	-	Na	90	41
	98	Ox	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	180
	96	Ox	iNip-OH	0	-	Na	410	350
	97	Ox	iNip-OMe	0	-	Na	4,8	530
	92	Ox	Nip-OH	0	-	Na	190	430
	93	Ox	Nip-OMe	0	-	Na	28	400
	94	Ox	D,L-Pip-OH	0	-	Na	19	340
	95	Ox	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	2,2	330
	62	Ox	D,L-Tic-OH	0	-	Na	3,2	200
	63	Ox	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	22	97

- 57 -

In Tabelle 2 sind für einige repräsentative, erfindungsgemässen Verbindungen auch ihre Hemmwirkung gegenüber Faktor X_a und Faktor XII_a, Protein C_a, Plasmin, Plasmakallikrein, tPA und glandulärem Kallikrein dargestellt. Gewöhnlich werden die anderen Enzyme wesentlich schwächer gehemmt, so Protein C_a, Plasmin, Plasmakallikrein und Faktor X_a (K_i 2 Grössenordnungen grösser). Praktisch unwirksam sind die Derivate gegenüber Faktor XII_a, tPA und glandulärem Kallikrein. Für die Mehrzahl der Verbindungen kann man daher von selektiven Thrombinhemmstoffen sprechen.

Tabelle 2
Hemmung von Thrombin, Trypsin, Plasmin, Faktor Xa, Faktor XIIa, Protein Ca, tPA, Plasma- und glanduläres Kallikrein

NAPAP	Am	Ppd	Verbindung	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	K _i [μmo/l]				Faktor XIIa	Protein Ca	tPA	gland. Kallikrein	Plasma Kallikrein
								Thrombin	Trypsin	Plasmin	Xa					
36	Am	Ppd	-1	H	Na	0,006	0,69	30	7,9	500	4,8	70	93	5,6		
37	Am	Ppd	-1	CH ₂ CO-OH	Na	0,45	7,5	260	4,8	25	270	6,6	>1000	47		
35	Am	Ppd	-1	CH ₂ CO-OMe	Na	0,24	5,9	170	2,2	34	39	13	>1000	33		
44	Am	OMe	-1	CH ₂ CO-OBu	Na	0,47	12	190	105	>1000	210	670	200	90		
57	Am	Ppd(4-Me)	-1	H	Na	0,0016	0,06	25	22	>1000	5,1	550	170	14		
26	Am	1N1p-OH	-1	H	Na	2,0	2,6	240	61	>1000	87	630	>1000	51		
27	Am	1N1p-OMe	-1	H	Na	0,29	0,71	16	67	>1000	7,0	500	130	20		
15	Am	Sar-OH	-1	H	Na	5,9	6,5	87	31	700	620	29	730	12		
16	Am	Sar-OMe	-1	H	Na	0,19	0,9	15	13	40	6,8	26	200	37		
83	Am	Ppd(4-Me)	0	-	Na	0,34	10,4	70	31	>1000	310	>1000	130	190		
90	Am	N1p-OMe	0	-	Na	0,68	16	180	26	>1000	890	>1000	19	160		

Tab. 2 (Fert.)

Ver-	bindung	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	Faktor			Faktor	Protein	gland.	Plasma	
							Thrombin	Trypsin	Plasmin	Xa	Xlla	Ca	tPA	Kallikrein
113	Am ₂	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	11	75	47	>1000	930	>1000	500	400
101	Am ₂	Nip-OH ₂	0	-	Na	3,9	30	13	80	>1000	>1000	>1000	400	>1000
66	Am ₂	D,L-Pip-OH ₂	0	-	Na	1,3	82	234	17	>1000	290	>1000	240	>1000
98	0x	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2,5	180	>1000	140	>1000	>1000	>1000	320	150
97	0x	1Nip-OH ₂	0	-	Na	4,8	530	>1000	270	>1000	>1000	>1000	530	>1000
95	0x	D,L-Pip-OH ₂	0	-	Na	2,2	330	540	39	>1000	>1000	>1000	890	>1000
62	0x	D,L-Tic-OH	0	-	Na	3,2	200	>1000	120	>1000	>1000	>1000	470	>1000

- 60 -

Im Vergleich zu früher geprüften Derivaten von Benzimidin-enthaltenden Aminosäuren (LD_{50} 10 - 50 mg/kg nach i.v.-Applikation) ist die Toxizität bei den erfindungsmässigen Verbindungen deutlich geringer. So wurde beispielsweise für Verbindung 26 ein LD_{50} -Wert von 210 mg/kg nach intravenöser Applikation gefunden.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Untersuchungen zur Pharmakokinetik von zwei erfindungsgemässen Verbindungen und als Vergleich dazu die Werte mit NAPAP zusammengestellt. Die Verbindungen wurden subcutan bzw. peroral an Ratten verabreicht. Nach der Verabreichung wurde den Versuchstieren in Zeitabständen von 2 bis maximal 360 Minuten Blutproben entnommen, in welchen der Blutspiegel der zu prüfenden Verbindungen mittels HPLC bestimmt wurde.

Tabelle 3

Konzentration (ng/ml) der ausgewählten Verbindungen im Plasma von Ratten nach subkutaner (5 mg/kg) bzw. peroraler (100 mg/kg) Verabreichung (siehe auch Abbildung 2)

Zeit (min)	NAPAP		Verbindung 26		Verbindung 36	
	s.c.	p.o.	s.c.	p.o.	s.c.	
15	294	0	1344	1867	260	
30	375	0	2023	1584	590	
45	324	0	2072	848	596	
60	361	0	1859	537	551	
90	330	0	1541	301	431	
120	327	0	1437	235	363	
180	230	0	1297	189	259	
240	173	-	1095	184	201	
300	-	-	936	201	185	
360	-	-	184	206	-	

- 61 -

Im Vergleich zu NAPAP zeigt das geprüfte Derivat 26 ein verbessertes pharmakokinetisches Verhalten. Nach subkutaner Verabreichung werden relativ hohe, lang andauernde Blutspiegel gefunden. Nach oraler Gabe kann NAPAP nicht im Plasma nachgewiesen werden, während die beispielhaft geprüften erfindungsmässigen Verbindungen verhältnismässig hohe Konzentrationen erreichen.

In vitro sind eine Reihe von repräsentativen erfindungsgemässen Verbindungen gerinnungshemmend wirksam. In allen Fällen wurde die Thrombinzeit (TT) am effektivsten verlängert. Dies entspricht der Selektivität dieser Inhibitoren, die unter den Gerinnungsfaktoren Thrombin am stärksten hemmen. Eine Verlängerung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), bei der neben Thrombin auch die an der Frühphase der Gerinnung beteiligten Enzyme zum Tragen kommen, wird durch höhere Konzentrationen der Inhibitoren erreicht. Das gilt auch für die Beeinflussung der Prothrombinzeit (PT), die den extrinsischen Gerinnungsweg repräsentiert. Beispielhaft ist das für Verbindung 57 in Abb. 1 gezeigt.

Zweckmässig werden die nach einer der erfindungsgemässen Verfahren hergestellten Phenylalanin-Derivate als solche oder als Salze mit einer physiologisch verträglichen anorganischen oder organischen Säure unter Verwendung geeigneter pharmazeutischer Hilfstoffe in geeignete Applikationsformen überführt. Entsprechend dem pharmakokinetischen Verhalten sind das insbesondere transdermale Therapie-Systeme wie Pflaster, aber auch Tabletten, Dragees, Kapseln, Suppositorien, Lösungen usf.

Die Dosierung hängt ab von der Antithrombinaktivität, der Toxizität, den möglichen Blutspiegelwerten, der Bioverfügbarkeit und der Applikationsart der verwendeten erfindungsgemässen Verbindung sowie ganz allgemein von den Blutwerten, dem Gewicht und dem Allgemeinzustand des Patienten, so dass die Dosierung letztlich vom praktizierenden Arzt bestimmt werden muss. Im Prinzip entspricht die Dosierung derjenigen bekannter thrombinhemmender

- 62 -

Verbindungen und liegt zwischen ungefähr 0,2 mg/kg und ungefähr 20 mg/kg Körpergewicht, wobei gegebenenfalls auch höhere Dosen verabreicht werden können. Bei einem erwachsenen Patienten ergeben sich somit tägliche Dosierungen einer erfindungsgemässen Verbindung von ungefähr 50 mg bis ungefähr 1600 mg oder mehr.

Anhand von Verbindung 26 soll beispielhaft die Überführung in 4 pharmazeutische Darreichungsformen gezeigt werden.

Beispiel 1

Tabletten mit 100 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

Zusammensetzung:

1 Tablette enthält 100 mg Wirkstoff, 60 mg Milchzucker, 30 mg Weizenstärke und 1 mg Magnesiumstearat.

Herstellungsverfahren

Der mit Milchzucker und Weizenstärke vermischt Wirkstoff wird mit einer 20%igen ethanolischen Lösung von Polyvinylpyrrolidon gleichmässig durchfeuchtet, durch ein Sieb der Maschenweite 1,5 mm gedrückt und bei 40°C getrocknet. Das so erhaltene Granulat wird mit Magnesiumstearat vermischt und zu Tabletten verpresst.

Beispiel 2

Dragees mit 50 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

Zusammensetzung:

1 Dragee enthält 50 mg Wirkstoff, 30 mg Milchzucker und 15 mg Weizenstärke.

Herstellungsverfahren

Der mit Milchzucker und Weizenstärke vermischte Wirkstoff wird in der unter Beispiel 1 beschriebenen Weise granuliert und zu ovalen Tablettenkernen verpresst, die anschliessend dragiert werden. Für den Dragievorgang wird eine Zuckermischung, bestehend aus 48 g Puderzucker, 18 g Gummi arabicum, 48 g Weizenstärke und 4 g Magnesiumstearat sowie als Bindemittel eine Mischung aus gleichen Teilen Mucilago Gummi arabici und Wasser verwendet.

- 63 -

Beispiel 3

Suppositorien (Zäpfchen) mit 100 mg der Verbindung 26 als Wirkstoff

Zusammensetzung:

1 Zäpfchen enthält 100 mg Wirkstoff und 0,9 g Zetylphthalat als Grundlage.

Herstellungsverfahren

1,0 g des feinst gepulverten Wirkstoffs werden mit der doppelten Menge der verflüssigten Grundlage verrieben. Die Verreibung wird mit dem Rest der verflüssigten Grundlage anteilweise gemischt und bis zur gleichmässigen Beschaffenheit bearbeitet. Nahe der Grenze der Giessbarkeit wird die Mischung in eine geeignete Form gegossen und bis zum Erkalten stehengelassen.

Beispiel 4

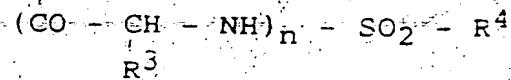
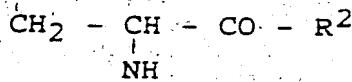
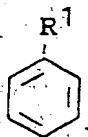
Injectioins- bzw. Infusionslösung mit 10 mg/ml der Verbindung 26 als Wirkstoff

Herstellungsverfahren

1,0 g Wirkstoff werden in 100 ml Aqua ad injectionem gelöst, die Lösung filtriert und gegebenenfalls in Ampullen zu je 2 ml abgefüllt. Die mit der Wirkstofflösung gefüllten und verschlossenen Gefässe (Infusionsflaschen, Ampullen) werden der Dampfsterilisation bei 121 bis 124°C unterzogen.

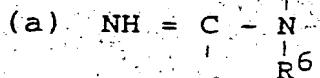
PATENTANSPRÜCHE

1. D,L-, L- und D-Phenylalanin-Derivate der Formel

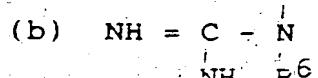


I

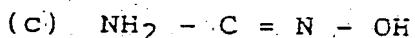
in welcher

 R^1 eine basische Gruppe der Formel R^5 

Amidino

 R^5 

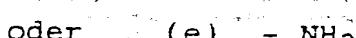
Guanidino



Oxamidino



Aminomethyl



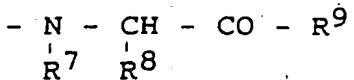
Amino

darstellt, wobei R^5 und R^6 in den Formeln (a) und (b) je Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest bezeichnen,

R^2 (f) OH, O-Alkyl, O-Cycloalkyl, O-Aralkyl ist,

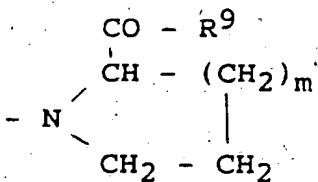
(g) eine Gruppe der Formel

- 65 -



darstellt, in welcher R^7 Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest und R^8 einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkylrest, einen 1- oder 2-Hydroxyethylrest, einen Methylmercaptoethylrest, einen Aminobutylrest, einen Guanidinopropylrest, einen Carboxy(niedrigen)alkylrest, einen Carboxamido(niedrigen)alkylrest, einen Phenyl(niedrigen)alkylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, einen Cyclohexyl- oder Cyclohexylmethylrest, dessen Ring gegebenenfalls mit OH, Halogen, niedrig-Alkyl oder Methoxy substituiert ist, oder einen N-Heteroaryl(niedrigen)alkylrest mit 3 bis 8 Kohlenstoffatomen im Heteroaryl, z.B. Imidazolylmethyl oder Indolylmethyl, bezeichnen, wobei die Gruppe (g) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist,

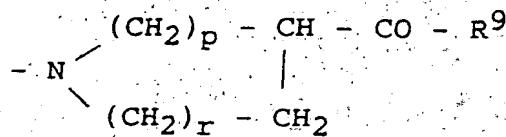
(h) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher m die Zahl 1 oder 2 bezeichnet, und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist, wobei die Gruppe (h) racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist,

(i) eine Gruppe der Formel

- 66 -



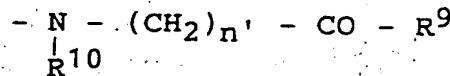
darstellt, in welcher $p = r = 1$, $p = 1$ und $r = 2$ oder $p = 2$ und $r = 1$ sind und in welcher eine der Methylengruppen gegebenenfalls mit einem Hydroxyl-, Carboxyl-, niederen Alkyl- oder Aralkyl-rest substituiert ist,

(k) eine Piperidylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in einer der Stellungen 2, 3 und 4 mit einem niederen Alkyl-, Hydroxyalkyl- oder Hydroxyl-rest substituiert ist,

wobei an die heterocycloaliphatischen Ringe der Formeln (h), (i), (k) gegebenenfalls ein weiterer aromatischer oder cycloaliphatischer Ring, vorzugsweise Phenyl oder Cyclohexyl, in 2,3 oder 3,4 Stellung, bezogen auf das Heteroatom, ankondensiert ist,

(l) eine Piperazylgruppe darstellt, die gegebenenfalls in p-Stellung mit einem niederen Alkylrest, einem Arylrest oder einem Alkoxy carbonylrest substituiert ist,

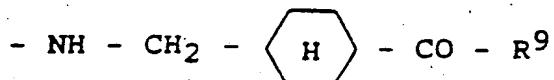
(m) eine Gruppe der Formel



darstellt, in welcher n' die Zahlen 1 bis 6 und R^{10} Wasserstoff oder den Methyl- oder Cyclohexylrest bezeichnen und $\text{R}^1 = (\text{b})$ bis (e) ist,

- 67 -

(n) eine Gruppe der Formel



darstellt, wobei R^9 in den Formeln (g), (h), (i), (l), (m) und (n) eine Hydroxyl-, geradkettige oder verzweigte niedrige Alkoxy-, Cycloalkoxy- oder Aralkoxy-Gruppe bezeichnet,

oder

(o) eine Kombination von 2 bis 20, vorzugsweise 2 bis 5, insbesondere 2 oder 3, der von den unter (g), (h), (i), (k), (l), (m) und (n) definierten Gruppen abgeleiteten, durch Amidbindungen verknüpften Resten (R^9 = Einfachbindung) darstellt, wobei der C-terminale Rest gegebenenfalls mit einem Rest R^9 verknüpft ist,

R^3 Wasserstoff oder einen geradkettigen oder verzweigten niedrigen Alkyl-, Aralkyl-, Carboxyalkyl-, Alkoxycarbonylalkyl-, Carboxamido-alkyl-, Heteroarylalkyl- oder einen 1- oder 2-Hydroxyethyl-Rest darstellt, wobei n die Zahl 0 oder 1 bezeichnet und die gegebenenfalls eingeschobene Aminosäure racemisch oder D- bzw. L-konfiguriert ist,
und

R^4 einen Arylrest, z.B. Phenyl, Methylphenyl, α - oder β -Naphthyl oder 5-(Dimethylamino)-naphthyl, oder einen Heteroarylrest, z.B. Chinolyl, darstellt,
wobei niedrig 1-4 Kohlenstoffatome bedeutet,

und deren Salze mit Mineralsäuren oder organischen Säuren.

2. Phenylalanin-Derivate nach Patentanspruch 1, in welchen

- 68 -

R^2 O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl, falls $n=0$ ist, oder einen heterocycloaliphatischen Rest der Formeln (h), (i), (k) und (l), darstellt,

R^4 β -Naphthyl bezeichnet, und

n die Zahl 1 bedeutet, falls R^2 verschieden von O-Alkyl, O-Cycloalkyl oder Aralkyl ist.

3. Verwendung der Phenylalanin-Derivate nach Patentanspruch 1 oder 2 zur Herstellung von oral, anal, subkutan, oder intravenös verabreichbaren antithrombotisch wirksamen Arzneimitteln.

4. Oral, anal, subkutan oder intravenös verabreichbares antithrombotisches Arzneimittel, gekennzeichnet durch eine wirksame Menge mindestens eines Phenylalanin-Derivates nach Patentanspruch 1 oder 2 und geeignete pharmazeutische Hilfsstoffe.

5. Antithrombotisch wirksames Arzneimittel nach Patentanspruch 4, in Form von Tabletten, Dragees, Kapseln, Pellets, Suppositorien, Lösungen oder transdermalen Systemen, wie Pflaster.

6. Verfahren zur Blutgerinnungs- resp. Thrombinhemmung bei Lebewesen, insbesondere bei Menschen, durch Verabreichung einer wirksamen Menge mindestens einer Verbindung nach einem der Patentansprüche 1 oder 2 resp. eines Arzneimittels nach einem der Patentansprüche 4 oder 5.

1/2

Abbildung 1
Verlängerung der Gerinnungszeiten durch
Verbindung 57 in vitro

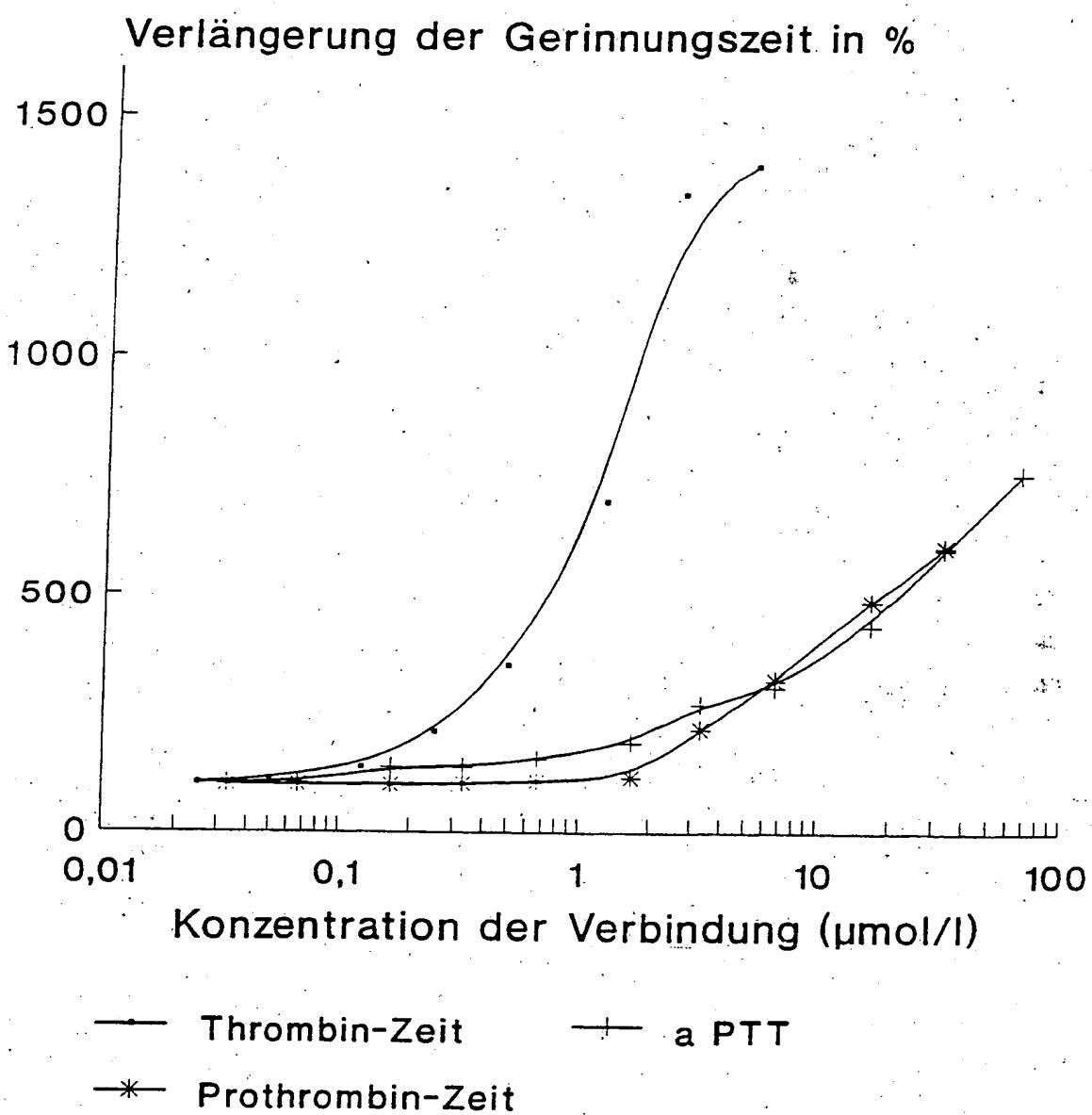
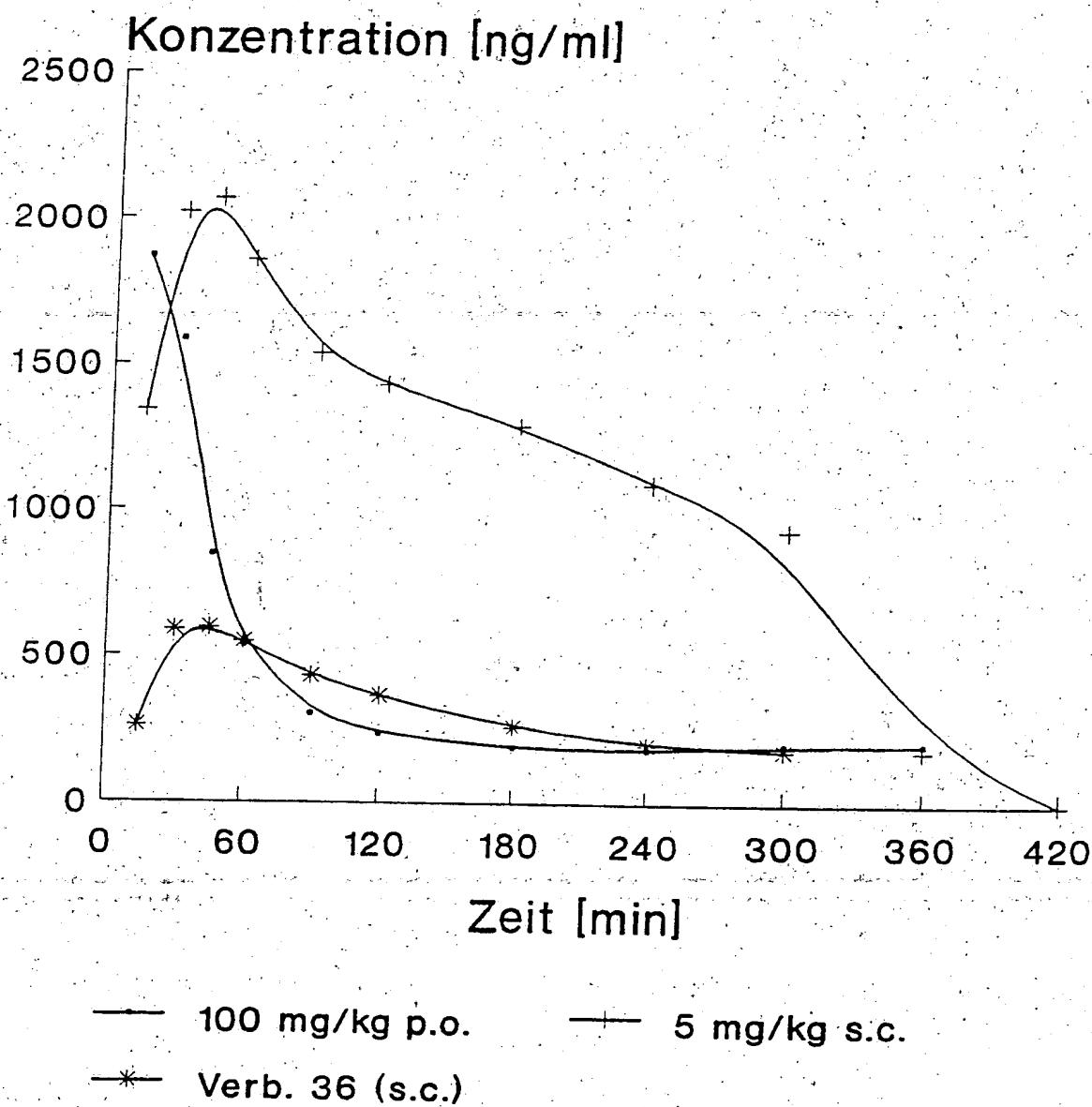


Abbildung 2: Plasmaspiegel der Verbindung 26 nach p.o.+ s.c. Applikation sowie Verbindung 36 nach s.c. Applikation



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/CH 92/00054

I. CLASSIFICATION & SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) *

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl. 5 C 07 K 5/04 A 61 K 37/64

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ?

Classification System	Classification Symbols
Int.Cl. 5 C 07 K	A 61 K

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched *

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT*

Category *	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X	Pharmazie, Vol. 42, No. 4, 1987, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-3-amidinophenylalanine stern aktive und relativ spezifische Inhibitoren von Faktor Xa", page 268, see the whole document	1-6
X	Pharmazie, Vol. 38, No. 9, 1983, (Berlin, DE), H. HORN et al.: "Synthetische Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 581-584, see the whole document	1-6
X	Pharmazie, Vol. 39, No. 1, 1984, (BERLIN, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese von N-(Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalanyl) aminocarbonsäuren, -estern und -amiden als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 16-18, see the whole document	1,3-6
		-/-

* Special categories of cited documents:¹⁰

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search

18 May 1992 (18.05.92)

Date of Mailing of this International Search Report

23 June 1992 (23.06.92)

International Searching Authority

European Patent Office

Signature of Authorized Officer

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SEC ND SHEET)

Category	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No
X	Pharmazie, Vol. 43, No. 6, 1988, (BERLIN, DE), B. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl)-4-Amidino-phenylalanyl-prolinen und von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-4-amidino-phenylalanyl-prolinen und deren Prüfung als Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 412-414, see the whole document	1,3-6
X	Pharmazie, Vol. 39, No. 2, 1984, (BERLIN, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalaninderivaten mit zwei C-terminal eingeschobenen Aminosäuren als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", pages 82-86, see the whole document	1,3-6
Y	Pharmazie, Vol. 36, No. 9, 1981, (BERLIN, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese antiproteolytisch wirksamer Nalpha-arylsulfonylierter Amidinophenylalaninamide", pages 597-603, see pages 597-598	1-6
Y	DD.A, 235866 (KARL-MARX UNIVERSITAT, LEIPZIG) 21 May 1986, see the whole document	1-6
Y	WO,A,8404301 (NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORP.) 8 November 1984, see page 2, lines 17-25	1-6
Y	P.G. SAMMES et al.: "Comprehensive Medicinal Chemistry", Vol. 2, 1990, pages 490-491 Pergamon Press, Oxford, GB, see pages 490-491	1-6
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 23, 1980 (Washington, US), R. KIKUMOTO et al.: "Thrombin inhibitors. 3: Carboxyl-containing amide derivatives of Nalpha-substituted L-arginine", pages 1293-1299, see the whole document	1-6
A	FR,A,2593812 (SANOFI) 7 August 1987, see claims	1-6
A	Pharmazie, Vol. 41, No. 4, 1986, (BERLIN, DE), R. VOIGT et al.: "Synthèse von Nalpha-(Arylsulfonyl-L-prolyl)- und Nalpha-Benzylloxycarbonyl-L-prolyl)-D,L-4-amidinophenylalaninamiden als Thrombininhibitoren". pages 233-235, see the whole document	1-6

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM THE SECOND SHEET**V. OBSERVATIONS WHERE CERTAIN CLAIMS WERE FOUND UNSearchABLE¹**

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2) (a) for the following reasons:

1. Claim numbers 6 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Remark : Although claim 6 relates to a method of treatment of the human body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.

2. Claim numbers because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. Claim numbers....., because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of PCT Rule 6.4(a).

VI. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING²

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers all searchable claims of the International application.

2. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers only those claims of the International application for which fees were paid, specifically claims:

3. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim numbers:

4. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, the International Searching Authority did not invite payment of any additional fee.

Remark on Protest

The additional search fees were accompanied by applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.

CH 9200054

SA 57402

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 17/06/92.
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DD-A- 235866		None	
WO-A- 8404301	08-11-84	AU-A- 2868684 EP-A- 0149615 US-A- 4593018	19-11-84 31-07-85 03-06-86
FR-A- 2593812	07-08-87	EP-A,B 0236163 JP-A- 62228050 US-A- 4977168	09-09-87 06-10-87 11-12-90

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/CH 92/00054

I. KLASSEFIKATION DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS (bei mehreren Klassifikationssymbolen sind alle anzugeben)⁶

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC
 Int.C1.5 C 07 K 5/04 A 61 K 37/64

II. RECHERCHIERTE SACHGEBiete

Recherchierte Mindestprüfstoff⁷

Klassifikationssystem	Klassifikationssymbole	
Int.C1.5	C 07 K	A 61 K

Recherchierte nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Sachgebiete fallen⁸

III. EINSCHLAGIGE VEROFFENTLICHUNGEN⁹

Art. ¹⁰	Kennzeichnung der Veröffentlichung ¹¹ , soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile ¹²	Betr. Anspruch Nr. ¹³
X	Pharmazie, Band 42, Nr. 4, 1987, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-3-amidinophenylalanine stern aktive und relativ spezifische Inhibitoren von Faktor Xa", Seite 268, siehe Insgesamt ---	1-6
X	Pharmazie, band 38, Nr. 9, 1983, (Berlin, DE), H. HORN et al.: "Synthetische Inhibitoren von Serinproteininasen", Seiten 581-584, siehe Insgesamt ---	1-6
X	Pharmazie, Band 39, Nr. 1, 1984, (Berlin, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese von N-(Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalanyl)aminocarbonsäuren, -estern und -amiden als potentielle Inhibitoren von Serinproteininasen", Seiten 16-18, siehe Insgesamt ---	1,3-6

¹⁰ Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen¹⁰:

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldeatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldeatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldeatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

IV. BESCHEINIGUNG

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18-05-1992

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

23 JUN 1992

Internationale Recherchenbehörde

EUROPAISCHES PATENTAMT

Unterschrift des bevollmächtigten Bediensteten

Mme N. KUIPER

III. EINSCHLAGIGE VERÖFFENTLICHUNGEN (Fortsetzung von Blatt 2)

Art o.	Kennzeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der maßgeblichen Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	Pharmazie, Band 43, Nr. 6, 1988, (Berlin, DE), B. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl)- 4-Amidino-phenylalanyl-prolinen und von Nalpha-(Arylsulfonylglycyl)-4-amidino-phenylalanyl -prolinen und deren Prüfung als Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 412-414, siehe Insgesamt ---	1,3-6
X	Pharmazie, Band 39, Nr. 2, 1984, (Berlin, DE), H. VIEWEG et al.: "Synthese von Nalpha-Tosyl-4-amidinophenylalaninderivaten mit zwei C-terminal eingeschobenen Aminosäuren als potentielle Inhibitoren von Serinproteinasen", Seiten 82-86, siehe Insgesamt ---	1,3-6
Y	Pharmazie, Band 36, Nr. 9, 1981, (Berlin, DE), G. WAGNER et al.: "Synthese antiproteolytisch wirksamer Nalpha-arylsulfonylierter Amidinophenylalaninamide", Seiten 597-603, siehe Seiten 597-598 ---	1-6
Y	DD,A, 235866 (KARL-MARX UNIVERSITÄT, LEIPZIG) 21. Mai 1986, siehe Insgesamt ---	1-6
Y	WO,A,8404301 (NATIONAL RESEARCH DEVELOPMENT CORP.) 8. November 1984, siehe Seite 2, Zeilen 17-25 ---	1-6
Y	P.G. SAMMES et al.: "Comprehensive Medicinal Chemistry", Band 2, 1990, Seiten 490-491, Pergamon Press, Oxford, GB, siehe Seiten 490-491 ---	1-6
Y	Journal of Medicinal Chemistry, Band 23, 1980, (Washington, US), R. KIKUMOTO et al.: "Thrombin inhibitors. 3. Carboxyl-containing amide derivatives of Nalpha-substituted L-arginine", Seiten 1293-1299, siehe Insgesamt ---	1-6
A	FR,A,2593812 (SANOFI) 7. August 1987, siehe Ansprüche ---	1-6
A	Pharmazie, Band 41, Nr. 4, 1986, (Berlin, DE), R. VOIGT et al.: "Synthese von Nalpha-(Arylsulfonyl-L-prolyl)- und Nalpha-Benzoyloxycarbonyl-L-prolyl)-D,L-4-amidinoph enylalaninamiden als Thrombininhibitoren", Seiten 233-235, siehe Insgesamt ---	1-6

WEITERE ANGABEN ZU BLATT 2

--	--	--

V. BEMERKUNGEN ZU DEN ANSPRÜCHEN, DIE SICH ALS NICHT RECHERCHIERBAR ERWIESEN HABEN

Gemäß Artikel 17 Absatz 2 Buchstabe a sind bestimmte Ansprüche aus folgenden Gründen nicht Gegenstand der internationalen Recherche gewesen:

1. Ansprüche Nr. 6

weil sie sich auf Gegenstände beziehen, die zu recherchieren die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich:

Bemerkung: Obwohl der Anspruch 6 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen Körpers bezieht, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung

2. Ansprüche Nr.

vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich:

3. Ansprüche Nr.

weil sie abhängige Ansprüche und nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4(a) PCT abgefasst sind.

VI. BEMERKUNGEN BEI MANGELNDER EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche der internationalen Anmeldung.
2. Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich der internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren gezahlt worden sind, nämlich
3. Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; sie ist in folgenden Ansprüchen erfaßt
4. Da für alle recherchierbaren Ansprüche eine Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchengebühr gerechtfertigt hätte, hat die internationale Recherchenbehörde eine solche Gebühr nicht verlangt.

Bemerkung hinsichtlich eines Widerspruchs

- Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

**ANHANG ZUM INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHT
ÜBER DIE INTERNATIONALE PATENTANMELDUNG NR.**

CH 9200054
SA 57402

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentdokumente angegeben.
Die Angaben über die Familienmitglieder entsprechen dem Stand der Datei des Europäischen Patentamts am 17/06/92.
Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DD-A- 235866		Keine	
WO-A- 8404301	08-11-84	AU-A- 2868684 EP-A- 0149615 US-A- 4593018	19-11-84 31-07-85 03-06-86
FR-A- 2593812	07-08-87	EP-A, B 0236163 JP-A- 62228050 US-A- 4977168	09-09-87 06-10-87 11-12-90

English Translation of

WO 92/16549

PCT/CH92/00054

Parasubstituted Phenylalanine Derivatives

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Parasubstituted Phenylalanine Derivates

The present invention concerns new proteinase inhibitors which contain phenylalanine as their basic structure in which the aromatic group is substituted in the para position. Through variation of the substituent on the phenylalanine group, insertion of acid amino acid in the N α position or C-terminal introduction of in particular heterocycloaliphatic amino carboxylic acids with hydrophobic properties, inhibitors with improved bioavailability were discovered.

Proteinase inhibitors are potential pharmaceutical preparations which can be used to control physiological processes triggered and sustained by proteinases. For numerous endogenous or naturally occurring anticoagulants it has been shown that *in vivo* they influence proteinase activity and are able to attenuate hyperproteolytic conditions [see Hörl, W.H. in: Design of Enzyme Inhibitors as Drugs, pp. 573-581, (Sandler, M. and Smith, H.J., eds.), Oxford, New York, Tokyo: Oxford University Press, 1989]. Owing to their particular protein structure, however, the therapeutic application of these relatively high-molecular inhibitors is limited. Because, on the one hand, these inhibitors are not resorbable in the intestine following oral application and, on the other, exert an antigenic activity, a search was made for synthetic micromolecular enzyme inhibitors.

The four classes of enzymes responsible for proteinase-dependent processes comprise the serine, thiol, metallo- and aspartate proteinases. Serine proteinases are proteolytic enzymes which possess a reactive serine group in the active site. Belonging to the trypsin family of serine proteinases are enzymes which, like trypsin, split as such C-terminal peptide bonds of the basic amino acids arginine and lysine. Of particular physiological significance in this group are those enzymes which trigger coagulation and fibrinolysis in the blood, release kinins and bring about complement activation or those which are themselves components of the enzyme systems cited.

Clotting is triggered through zymogen activation via two different paths. The first, endogenous pathway, results in clotting through a blood component-induced chain reaction. The second, exogenous pathway results in coagulation via a shorter, chain reaction-based reciprocal action between blood and tissue components. Both pathways cause activation of the zymogen factor X to serine proteinase factor X_a which, in turn,

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 2 -

catalyses the activation of prothrombin to the fibrinogen-coagulating serine proteinase thrombin. As a common product of both the endogenous and exogenous activation process, factor X_a was initially viewed as a preferred target enzyme for inhibiting interference in the clotting process (Tidwell, R.R. et al., Thromb. Res. 19, 339-349, 1980). Most recently, however, it was demonstrated that synthetic factor X_a inhibitors are not effective in vitro and in vivo as anticoagulants (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 54, 245-252, 1989) or as antithrombotic agents (Hauptmann, J. et al., Thromb. Haemostas. 63, 220-223, 1990). For this reason, the development of anticoagulatively effective inhibitors concentrates on discovering thrombin inhibitors.

Trypsin is itself capable of triggering hyperproteolytic conditions in the pancreas, that is, in the gland in which it is formed as zymogen. One must proceed from the premise that traces of trypsinogen are activated in the gland to trypsin and that the trypsin formed also converts other proenzymes into the enzymatically active form.

The switching off of trypsin activity by inhibitors would, accordingly, be an effective action in preventing activation processes. Because inhibition must, however, take place primarily in the gland, the inhibitor must get into the cells of the pancreas. As a miniprotein, the naturally occurring inhibitor aprotinin, however, has no chance of doing so in vivo, but is able to favorably influence secondary events (shock). In contrast thereto it could be shown with micromolecular inhibitors derived from the 4-guanidino benzoic acid that in experimental pancreatitis in rats, compounds of this kind are able to reduce enzyme activity in both the gland and in the blood (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986).

Benzamidino derivates for the development of synthetic inhibitors for trypsin and its related enzymes have been widely investigated (Stürzebecher, J. et al., Acta Biol. Med. Germ. 35, 1665-1676, 1976).

Amino acid derivates with benzamidino structure and para amidino group have proven to be good basic structures for the development of effective trypsin inhibitors. Thus, of the benzamide type, the amino acid derivate Na-(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-phenylalanine-piperidide is the strongest thrombin inhibitor heretofore described ($K_i = 6 \times 10^9$ mol/liter). With a K_i of 7.9×10^7 mol/liter, the inhibitor

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 3 -

designated as NAPAP ranks among the effective trypsin inhibitors (Stürzebecher, J. et al., Thromb. Res. 29, 635-642, 1983).

Further inhibitor types are also known which also effectively inhibit trypsin and thrombin: a first group comprises peptidyl-arginine-chloromethyl ketones, e.g. Dns-Glu-Gly-Arg-CH₂Cl, which inhibits trypsin (Kettner, C. et al., Meth. Enzymol. 80, 826-842, 1981) and H-D-Phe-Pro-Arg-CH₂Cl, which also inhibits thrombin (Kettner, C. et al., Thromb. Res. 14, 969-973, 1979). A second group includes peptide argininal dehyde, e.g., Boc-D-Phe-Pro-Arg-H and H-D-Phe-Pro-Arg-H (Bajusz, S., Int. J. Peptide Protein Res. 12, 217-221, 1978), which inhibit trypsin and thrombin with comparable affinity. These inhibitors, however, are unstable and, owing to their great reactivity, cause undesired secondary reactions. Trypsin and thrombin are likewise inhibited in a time-dependent reaction by the boron acid derivate Boc-D-Phe-Pro-Boro-Arg-C₁₀H₁₆ (cf. European patent application No. 0 293 881). The selective thrombin inhibitor (2R,4R)-4-methyl-1-[Nα-(3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-quinoline-sulfonyl)-L-arginine]-2-pipecolic carboxylic acid also has a certain trypsin-inhibiting activity (Kikumoto, R. et al., Biochemistry 23, 85-90, 1984).

Described as therapeutically applicable, non-selective inhibitors which, among other things, inhibit trypsin and thrombin are methane sulphonate of the 4-(6-guanidino-hexanoyloxy)-benzoic acid ethyl ester (Muramatu, M. et al., Biotic. Biophys. Acta 268, 221-224, 1972) and dimethane sulphonate of the 6-amidino-2-naphthyl-p-guanidino benzoic acid (cf. US patent No. 4 454 338), proposed for the treatment of acute pancreatitis (Iwaki, M. et al., Japan. J. Pharmacol. 41, 155-162, 1986)..

All benzamidino derivates heretofore tested possess unfavorable pharmacodynamic and pharmacokinetic properties for a therapeutic application. They are not resorbed in the intestine when orally administered, are quickly eliminated from circulation and their toxicity is relatively high. This applies to both N-α-arylsulphonylated 4-amidino-phenylalanine amides (Markwardt, F. et al., Thromb. Res. 17, 425-431, 1980) as well as to N-α-aryl-sulphonyl-aminoacylated 4-amidino-phenylalanine amides (cf. patent application No. DD-A-235 866). The strong basic amidino function is responsible for the insufficient pharmacological properties (Kaiser, B. et al., Pharmazie 42, 119-121, 1987).

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 4 -

Attempts at substituting the strong basic amidino function in highly effective inhibitors with weaker basic groups were unsuccessful; such changes would have resulted in a significant loss of potency (Stürzebecher, J. et al., *Pharmazie* 43, 782-783, 1988). The introduction of a carboxyl group into the inhibitor to reduce basicity of the amidino function also led to a drop in inhibitor activity. Thus, 4-amidino-phenylalanine derivatives possessing C-terminally an amino acid with free carboxyl group are inhibitorily completely ineffective (Wagner, G. et al., *Pharmazie* 39, 16-18, 1984; Vieweg, H. et al., *Pharmazie* 39, 82-86, 1984).

NAPAP modification through introduction of a substituent at the α -nitrogen, which resulted in a slight increase of antithrombotic activity (cf. European patent application No. FR-A-2 593 812) also brought no improvement in pharmacological properties (Cadroy, Y. et al., *Thromb. Haemostas.* 58, 764-767, 1987).

In the meantime, favorable conditions for the development of selective trypsin inhibitors do exist. Consequently, the x-ray crystal structures of trypsin complexes are known not only with benzamidino (Bode, W. and Schwager, P., *J. Molec. Biol.* 98, 693-717, 1975) and its simple derivates (Walter, J. and Bode, W., *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 364, 949-959, 1983), but also with the thrombin inhibitors Na^+ -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-phenylalanine-piperidine (Bode, W. et al., *Eur. J. Biochem.* 193, 175-182, 1990) and (2R,4R)-4-methyl-1-[Na^+ (3-methyl-1,2,3,5-tetrahydro-8-quinoline-sulfonyl)-L-arginine]-2-pipecolic carboxylic acid (Matsuzaki, T. et al., *J. Biochem.* 105, 949-952, 1989), which likewise form stable complexes.

Positing the differences in the bonding areas of the active site between trypsin and thrombin an attempt was made, through modification of the basic structures, to devise therapeutically applicable trypsin inhibitors with good pharmacological properties. Thus, it was to be anticipated that, for example, compounds with an acid amino acid instead of glycine in the inhibitor Na^+ -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-phenylalanine-piperidine are no longer bound to thrombin because thrombin possesses a glutamic acid group in position 192 (Bode, W. et al., *Eur. J. Biochem.* 193, 175-182, 1990). In contrast thereto, bondability to trypsin should be preserved and/or improved because an unloaded glutamine group is positioned in the trypsin at this site. In this framework, Na^+ -(2-

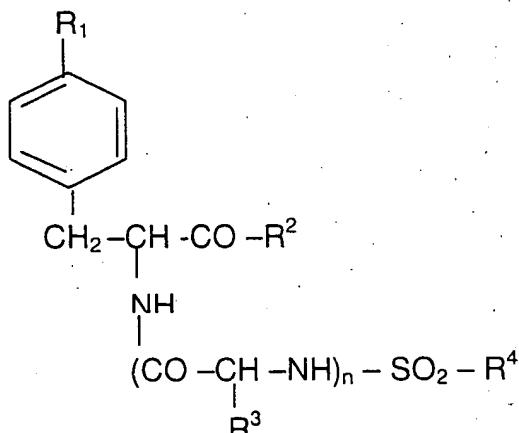
THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 5 -

naphthylsulphonyl-aspartyl-4-amidino phenylalanine piperide, for example, was produced. It was determined that this compound does not, as anticipated, selectively inhibit trypsin but, surprisingly, thrombin. It was further determined that this compound possesses improved pharmacokinetic properties and especially following subcutaneous administration in rats is resorbed through the intestine, remains available in effective, clotting-inhibiting concentration in the blood over a longer period of time and has very low toxicity. This also applies to compounds carrying heteroaliphatic amino acids in the C-terminal moiety.

The present invention relates to new proteinase-inhibiting D,L-, L- and D-phenylalanine derivates having the formula

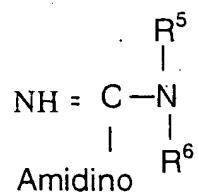
I.



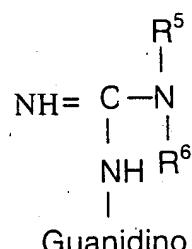
in which

R' stands for a basic group of the formula

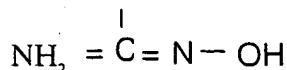
(a)



(b)



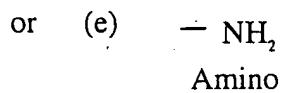
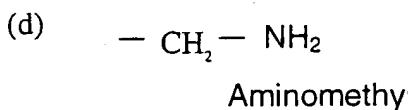
(c)



Oxamidino

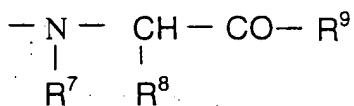
THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 6 -



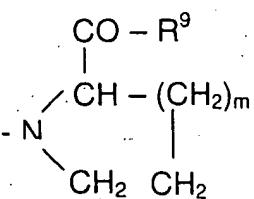
wherein, R⁵ and R⁶, in the formulas (a) and (b), designate in each case a hydrogen or a straight-chain or branched low alkyl group,

R² (f) can be OH, O-alkyl, O-cycloalkyl, O-aralkyl,
(g) represents a group of the formula



in which R⁷ designates hydrogen or a straight-chained or branched low alkyl group and R⁸ a straight-chained or branched low alkyl group, a 1- or 2-hydroxyethyl group, a methyl mercapto ethyl group, an aminobutyl group, a guanidino propyl group, a carboxy (low) alkyl group, a carboxamido (low) alkyl group, a phenyl (low) alkyl group, whose ring, if applicable, is substituted by OH, halogen, low alkyl or methoxy, a cyclohexyl or cyclohexyl methyl group, whose ring, if applicable, is substituted by OH, halogen, low alkyl or methoxy, or an N-heteroaryl (low) alkyl group with 3 to 8 carbon atoms in the heteroaryl, e.g., imidazolyl methyl or indolyl methyl, wherein the group (g) can be racemic or D- or L-configured,

(h) represents a group of the formula

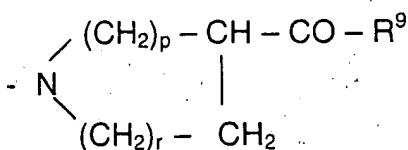


THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 7 -

in which m designates the number 1 or 2 and in which one of the methylene groups is possibly substituted by a hydroxyl, carboxyl, low alkyl or aralkyl group, wherein the group (h) can be racemic or D- or L-configured,

(i) represents a group of the formula

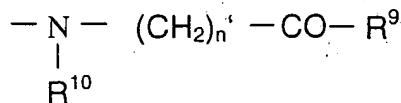


in which $p = r = 1$, $p = 1$ and $r = 2$ or $p = 2$ and $r = 1$ and in which one of the methylene groups is possibly substituted by a hydroxyl, carboxyl, low alkyl or aralkyl group,

(k) represents a piperidyl group which is possibly substituted in one of the positions 2, 3 and 4 by low alkyl, hydroxyalkyl or hydroxy group, wherein a further aromatic or cycloaliphatic ring, preferably phenyl or cyclohexyl, can be fused to the heterocycloaliphatic rings of the formulas (h), (i), (k) in the 2,3 or 3,4 position, referenced to the heteroatom,

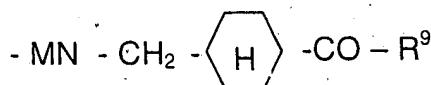
(l) a piperazyl group, which is possibly substituted in p -position by an alkyl group, a aryl group or an alkoxy carbonyl group,

(m) represents a group of the formula



in which n' designates the numbers 1 through 6 and R^{10} hydrogen or the methyl or cyclohexyl group and R^1 can be = (b) to (e),

(n) represents a group of the formula



wherein R^9 designates in the formulas (g), (h), (i), (l), (m) and (n) a hydroxyl, straight-chained or branched low alkoxy, cycloalkoxy or an aralkoxy group,

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 8 -

or

(o) represents a combination from 2 to 20, preferably 2 to 5, in particular 2 or 3, of the derived groups defined under (g), (h), (i), (k), (l), (m) and (n), linked together by amide bonds (R^9 = single bond), wherein the C-terminal group is possibly coupled to a group R^9 ,

R^3 represents hydrogen or straight-chained or branched low alkyl, aralkyl, carboxyalkyl, alkoxy carbonyl-alkyl-, carboxamido-alkyl-, heteroarylalkyl- or a 1- or 2-hydroxyethyl group, wherein n designates the number 0 or 1 and the amino acid possibly inserted can be racemic or D- or L-configured, and

R^4 represents an aryl group, e.g. phenyl, methyl phenyl, α - or β -naphthyl or 5-dimethylamino)-naphthyl, or a heteroaryl group, e.g. quinolyl; wherein low means 1-4 carbon atoms, and their salts with mineral acids or organic acids.

The compounds of the general formula I with R^1 = amidino (a) can be produced according to the following described, inherently known methods.

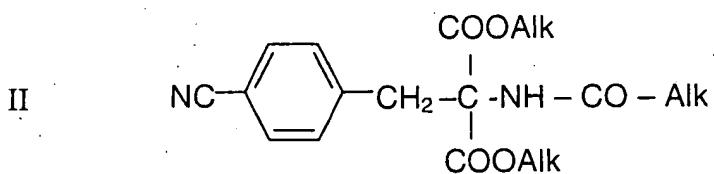
Of the phenylalanine derivates defined in the general claims, compounds in which R^2 represents O-alkyl, O-cycloalkyl or aralkyl if n=0, represents a heterocycloaliphatic group explained in greater detail in the formulas (h), (i), (k) and (l),

R^4 designates β -naphthyl and

n means the number 1,

are of particular significance.

4-cyanobenzyl-acylamino-malonic acid diesters of the general formula II,

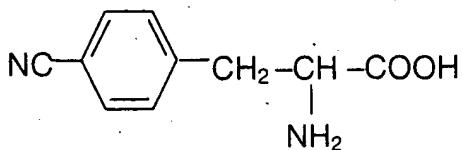


THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 9 -

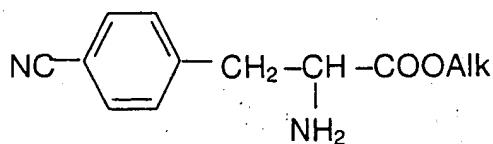
in which Alk preferably means -CH₃, or -C₂H₅, are converted in a mixture of 3 N HCl and glacial acetic acid through refluxing to 4-cyano-phenylalanine III

III

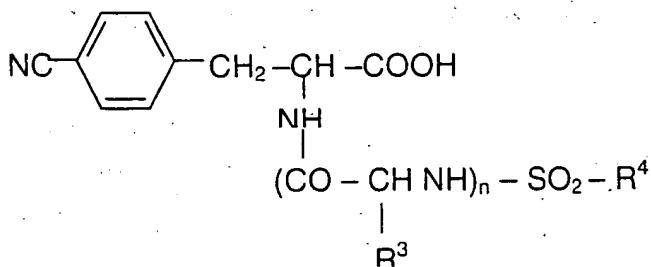


whose esterification with a low alcohol, preferably methanol, in the presence of toluene-p-sulphonic acid or sulfuric acid, results in 4-cyano-phenylalanine alkyl ester IV.

IV



V



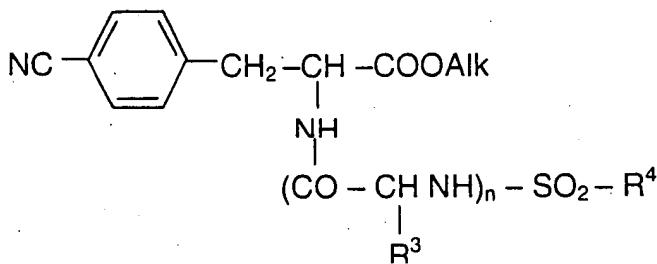
in which n = 0 or is 1 and R³ and R⁴ possess the meanings described in the general formula I, are obtained.

According to a second variant, for preparation of the compounds V sulphonylated amino acids are initially converted with the carboxylic acid ester IV in accordance with the DDC process to compounds of the general formula VI

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 10 -

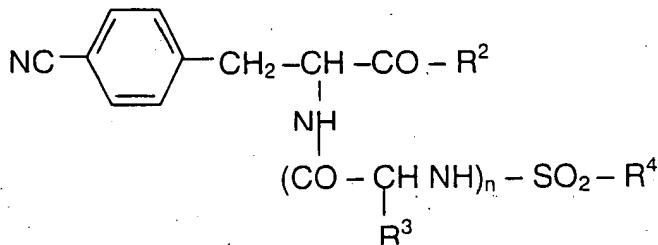
VI



with carboxylic acid ester structure, from which, following alkaline hydrolysis, the compounds V are obtained. The meanings of n, R³ and R⁴ in the general formula VI correspond to those of compounds V.

The compounds of the general formula VII,

VII



in which R² possesses the meanings cited in the general formula I under (g), (h), (i), (k), (l), (m), (n) and (o) and R³ and R⁴ possess the meanings stated in this formula and R⁹ represents a straight-chained or branched alkoxy or benzyloxy group, are prepared in accordance with a first method variant through conversion of compounds V with a corresponding amino acid ester in accordance with the mixed anhydride process by bringing structure V compounds to reaction, preferably with chloroformic acid butyl ester, in the presence of a suitable tertiary base, e.g., 4-methyl morpholine, at -15° to -20°C in an aprotic diluent and subsequently converting them with an amino acid ester or amine.

In accordance with a second method variant, the compounds of the general formula V are converted according to the DCC process with corresponding amino acid esters by bringing the compounds V to reaction in a suitable aprotic diluent with dicyclohexyl

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 11 -

carbodiimide in the presence of 1-hydroxybenzotriazole and converted to VII with the amino acid esters or amines cited.

In accordance with a third method variant, after conversion to active esters with, for example, N-hydroxy succinimide, 2,3,4,5,6,-pentafluorophenol or p-nitrophenol in the presence of dicyclohexyl carbodiimide, structure V compounds are isolated or converted with corresponding amino acid esters or amines to compounds of the general formula VII without interim isolation.

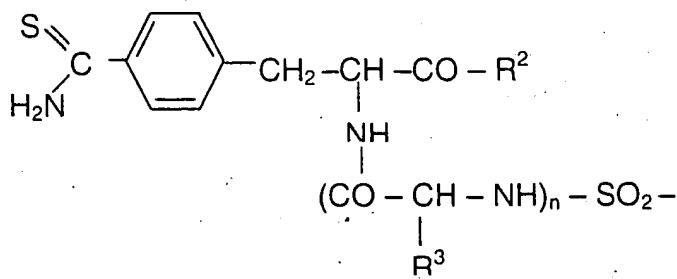
In accordance with a fourth method variant, structure V compounds, in which n = 0, are converted, for example, with thionyl chloride to acid chlorides which are subsequently converted with corresponding amino acid esters or amines to compounds of the general formula VII.

Through mild alkaline or acid hydrolysis with, for example, diluted NaOH or trifluoroacetic acid structure VII compounds, the compounds with carboxylic acid structure of the general formula VII are obtained, wherein R², R³ and R⁴ possess the meanings cited in the general formula I and the R⁹ defined in R² = OH.

Proceeding from the compounds with carboxylic acid structure VII, further amino acid esters can be coupled in accordance with the processes precedingly described.

Through addition of H₂S to VII with carboxylic acid or carboxylic acid ester structure to pyridine in the presence of triethyl amine, the thioamides of the general formula VIII

VIII



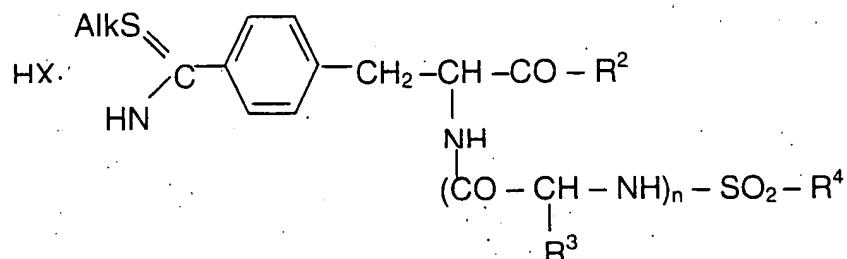
are obtained, wherein the meanings of the substituents R², R³ and R⁴ correspond to those of the general formula I.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 12 -

Through conversion of the compounds VIII with an alkyl halogenide, preferably, methyl iodide, the thioimide acid ester halogenides IX

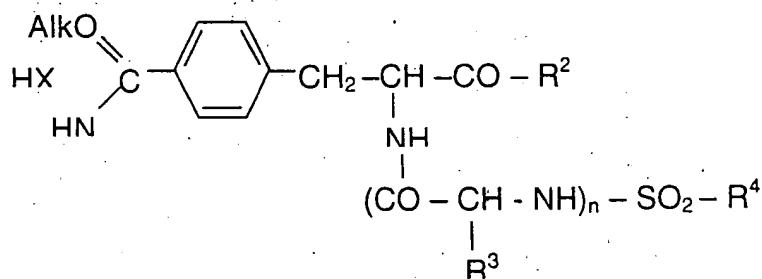
IX



are obtained. The meanings of n and R² through R⁴ correspond to those of the general formula I, Alk represents low alkyl, preferably -CH₃, and X means halogen, generally iodine.

Additionally, the compounds VII can be converted with a low alcohol, possibly in the presence of a solvent like, for example, dioxane or chloroform, in the presence of anhydrous halogen hydrogen, to imide acid ester halogenides X.

X

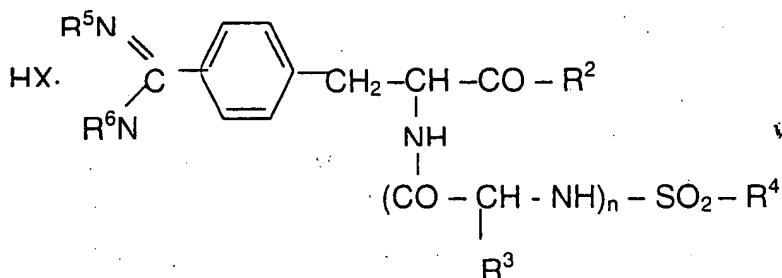


wherein compounds with free -COOH group are esterified at the same time with the alcohol used. The meanings of n and R² through R⁴ correspond to those of the general formula I, Alk represents low alkyl, preferably -CH₃ or C₂H₅, and X means halogen, generally chorine.

To prepare the target compounds XI

THIS PAGE BLANK (USPTO)

XI



with $n = 0$ or 1 and the meanings of the substituents R^1 through R^6 analogous to those of the general formula I and X = halogen, the thioimide acid ester salts IX are converted in an alcoholic solution with ammonium acetate or an alkyl ammonium acetate or the imide acid ester salts X converted in alcoholic ammonia solution to XI.

Compounds XI with one t-butoxy group (R^9) in the substituent R^2 can subsequently be converted through hydrolysis with trifluoroacetic acid to compounds XI with carboxylic acid structure ($\text{R}^9 = \text{OH}$).

Compounds XI with an OH group (R^2 or R^9) can subsequently be converted, with preferably low aliphatic ($\text{C}_1\text{-C}_8$), cycloaliphatic or araliphatic alcohols, in the presence of hydrochloric acid or p-tolul sulphonic acid, to compounds XI with carboxylic acid structure ($\text{R}^2, \text{R}^9 = \text{O-alkyl, O-cycloalkyl, O-aralkyl}$).

The compounds of the general formula I with $\text{R}^1 = \text{oxamidino (c)}$ are prepared, via the intermediate products of the formulas II through IX, on the same synthetic pathway as the compounds with $\text{R}^1 = \text{amidino (a)}$. In the last step of synthesis, the thioimide acid ester salts IX are converted with hydroxyl ammonium acetate to compounds of the general formula I, wherein R^1 represents the oxamidino group (c).

The compounds of the general formula I with $\text{R}^1 = \text{aminomethyl (d)}$ are likewise prepared, via the intermediate products of the formulas II through VII, in the same manner. In order to arrive at the target compounds of the general formula I with $\text{R}^1 = -\text{CH}_2-\text{NH}_2$, the cyano compounds VII are catalytically reduced, for example with Raney nickel hydrogen in alcoholic solution in the presence of ammonia, to the aminomethyl

THIS PAGE BLANK (USPTO)

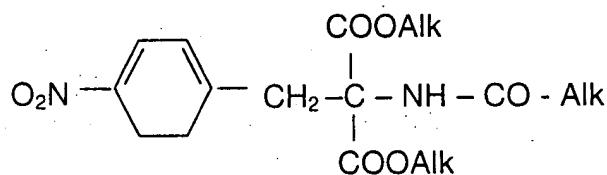
- 14 -

compounds. The free bases obtained are converted in suitable manner to salts, preferably hydrochlorides.

The compounds of the general formula I with R¹ = guanidino (b) can in principle be prepared in accordance with the same synthetic scheme as those with amidino structure (a).

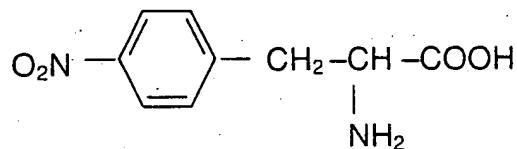
To this end, 4-nitrobenzyl acylamino malonic acid diesters of the general formula XII

XII



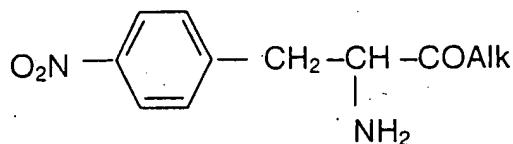
in which Alk preferably means - CH₃ or - C₂H₅, are converted through refluxing in a mixture of 3 N HCl and glacial acetic acid to 4-nitrophenylalanine XIII,

XIII



whose esterification, with a low alcohol, preferably methanol, in the presence of toluene-p-sulphonic acid, hydrogen chloride or sulfuric acid, results in 4-nitrophenylalanine alkyl ester XIV.

XIV

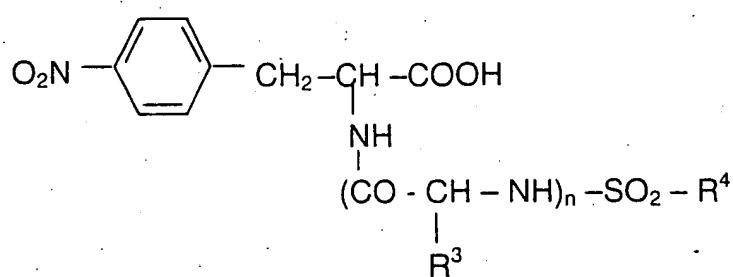


THIS PAGE BLANK (USPTO)

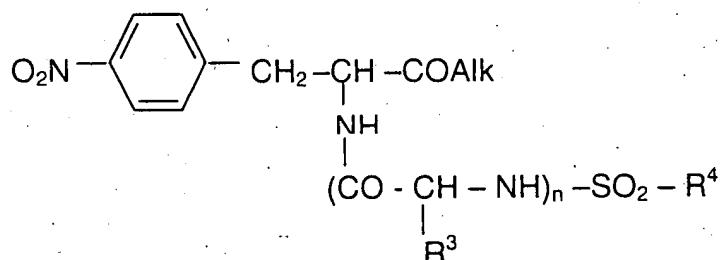
- 15 -

The compounds XV, XVI and XVII

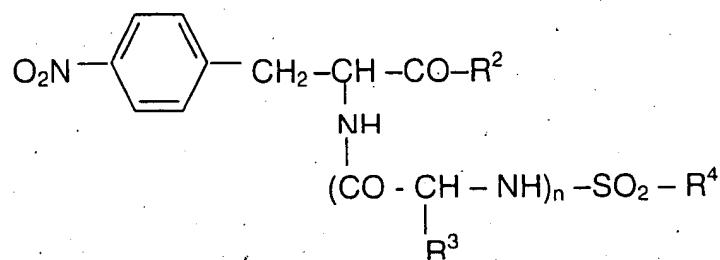
XV



XVI



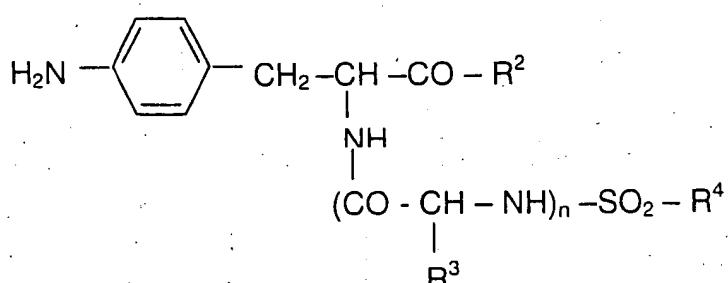
XVII



are obtained in the same manner as the corresponding cyano compounds V through VII, wherein the meanings of n , R^2 , R^3 and R^4 are also corresponding.

Through catalytic hydration by means of, for example, Raney nickel hydrogen in a suitable solvent, the amino compounds of the general formula XVIII

XVIII



THIS PAGE BLANK (USPTO)

are obtained from XVII, which, by means of a suitable guanylation reagent, for example 1-amidino-3,5-dimethyl-pyrazole-nitrate, are converted to the guanidino compounds of the general formula I with R¹ = guanadino (b).

Compounds with the general formula I with R¹ = guanidino (b), oxamidino (c), aminomethyl (d) or amino (e) and one t-butoxy group (R⁹) in the substituent R² can be converted through hydrolysis with trifluoroacetic acid to compounds with carboxylic acid structure (R⁹ - OH), which through esterification with low alcohols, preferably methanol, in the presence of hydrochloric acid or toluene-p-sulphonic acid, can be subsequently converted to compounds with carboxylic acid ester structure (R⁹ = alkoxy).

The biological activity of the compounds in accordance with the invention was determined in vitro as well as in vivo. For characterization of the inhibitor activity in vitro, the dissociation constants K_i for were measured for the inhibition of trypsin and/or the related enzymes thrombin, plasmin, factor X_a, tPA, glandular kallikrein, factor XII_a and plasma kallikrein in accordance with the formula

$$K_i = \frac{[E] \cdot [I]}{[EI]}$$

in which [E] designates the concentration of free enzyme, [I] the concentration of free inhibitor and [EI] the concentration of enzyme-inhibitor complex. (Dixon, Biochem. Vol. 55, 170-173, 1953). The smaller the K_i value for an enzyme tested is, the greater the affinity of the inhibitor for the enzyme and the smaller the amount needed of inhibitor for inhibition of the enzyme, for example, thrombin.

In vitro, different coagulation tests were used to determine the effectiveness of the inhibitors vis-à-vis the thrombin-triggered coagulation of its natural substrate, fibrinogen. To this end, thrombin time (TT), activated partial thromboplastin time (aPTT) and prothrombin time (PT, quick value) were determined in human plasma.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 17 -

Toxicity of the compounds in accordance with the invention was established through determination of the LD₅₀ (= dosage resulting in mortality of 50% of the experimental animals over an observation period lasting one week) in mice following intravenous and/or peroral administration.

For pharmacokinetic characterization, the plasma concentration of selected derivates after subcutaneous (s.c.) and peroral (p.o.) application in rats was determined in accordance with the following three-step process:

1. A solution of the substance to be tested in physiological saline solution was subjected to high pressure liquid chromatography (HPLC) in order to determine the characteristic peak for the substance to be tested at the substance-specific retention time under the testing conditions selected.
2. The substance to be tested was dissolved in vitro in rat plasma. This solution also underwent HPLC in order to determine whether the substance-characteristic peak would again appear at the substance-specific retention time.
3. The substance to be tested was dissolved in physiological saline solution and administered s.c. and p.o. to rats in a dosage of 5 and 100 mg per kg of body weight. Blood samples were taken at 15 minute time intervals, from which, through centrifuging, plasma samples were produced which, in turn, were subjected to HPLC in order to determine whether the substance-characteristic peak would again appear at the substance-specific retention time.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 18 -

COMPOSITIONAL LEGEND

SS - solvent system (see below)

R_f - retention factor, with indication of 2 R_f- values, double-spot formation through isomerism

To implement the thin-film chromatographic tests, MERCK thin-film ready-to-use plates with silica gel 60, F254, as coating, and the following solvent systems (SS) were used:

SS 1: organic phase of ethyl acetate/acetic acid/water (4/1/2)

SS 2: chloroform/methanol/acetic acid (40/4/1)

Spray reagents: ninhydrin - for primary and secondary aliphatic amino groups

4-dimethylamino benzaldehyde - for primary aromatic amino groups

To implement column chromatography for purposes of raw product cleaning, silica gel 60 with a particle size of 0.035 - 0.070 mm was used.

ABBREVIATIONS in Examples 1 - 11

TEA - triethylamine

HOBt - 1-hydroxy benzotriazol

DCC - dicyclohexyl carbodiimide

NMM - 4-methyl morpholine

DMF - dimethyl foramide

THF - tertrahydrofuran

TFA - trifluoroacetic acid

HOSu -N-hydroxy succinimide

tf - thin-film chromatographic

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 19 -

Example 1

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-(D,L)-pipecolic acid (8)

(4-cyanobenzyl)-acetamino-malonic acid-diethylester (1)

10.0 g 4-cyanobenzyl bromide and 11.0 g acetamino-malonic acid-diethylester were dissolved in 100 ml abs. dioxane and, while stirring, a sodium methylate solution (1.15 g sodium/50 ml. abs. ethanol) added dropwise. The preparation was refluxed 5 hours, precipitated NaBr subsequently filtered off in the vacuum and the filtrate evaporated to low bulk in a vacuum to incipient crystallization. 250 ml water were added, the precipitate suctioned off, washed with water and recrystallized. Yield: 81%, melting point 166-168°C.

4-cyano-(D,L)-phenylalanine-hydrochloride (2)

12.0 g of compound 1 were refluxed 6 hours in a mixture of 32 ml glacial acetic acid and 64 ml 3 N HCl. The solvent was subsequently distilled off and the residue dried. The raw product obtained was dissolved in methanol and chromatographically cleaned via a column (Sephadex® LH-20, Pharmacia) with methanol as eluting agent. Yield: 70%, melting point 226-228°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-cyano-(D,L)-phenylalanine (3)

11.5 g of the compound were dissolved in 160 ml 1 N KOH, a solution of 12.5 g 2-naphthylsulphonyl chloride added to 100 ml ether and the mixture stirred 16 hours at room temperature, whereby after approximately 1.5 hours the potassium salt of compound 3 began to crystallize out. The precipitate was subsequently suctioned off, washed with ether, dissolved under heating in water and acidified with 3 N HCl, whereby compound 3 crystallized out. It was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 60%, melting point 184-186°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 20 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-ethyl ester
(4)

1.35 g (D,L) pipecolic acid-ethyl ester and 0.8 g NMM were dissolved in 20 ml ethyl acetate, a solution of 3.0 g of the acid chloride obtained from compound 3 and thionyl chloride added dropwise to 30 ml ethyl acetate and the preparation stirred 2 hours at room temperature. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved in 20 ml methanol and allowed to stand in order to crystallize. The precipitate formed was suctioned off and recrystallized from methanol/water. Yield: 65%, melting point 164-166°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (5)

2.0 g of compound 4 were suspended in a mixture of, in each case, 20 ml methanol and 1 N NaOH and the preparation stirred at room temperature until complete saponification (tf control). Subsequently, half of the solvent was distilled off in a vacuum and the remaining solution acidified with 1 N HCl. The precipitated out, amorphous product was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 90%.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid
(6)

1.0 g of compound 5 was dissolved in 15 ml pyridine and 1 ml TEA, H₂S introduced 10 minutes into the solution and the preparation stored 48 hours at room temperature. The solvent was subsequently distilled off, absorbed in ethyl acetate and extracted out with 1 N HCl. The organic phase was washed 1 time with water, dried via MgSO₄ and the solvent distilled off. The isolated yellow, amorphous product was further processed in the form obtained. Yield: 85%.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-hydroiodide (7)

1.0 g of compound 6 was dissolved in 20 ml acetone, the solution mixed with 3.0 g methyl iodide and the preparation stored, protected from light, at room temperature for 20

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 21 -

hours, whereby compound 7 began to crystallize out. It was left another to stand 24 hours in the refrigerator, the precipitate suctioned off, washed with acetone/ether 1:1 and dried. Yield: 67%, melting point 203-205°C (decomp.)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-hydroiodide (8)

0.6 g of compound 7 were dissolved in 10 ml methanol, the solution mixed with 0.1 g ammonia acetate and the preparation heated gently 3 hours at 60°C in a water bath. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved in ethanol and compound 8 precipitated out with ether. The precipitate formed was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 78%, melting point starting at 185°C.

Example 2

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-sarcosine and -methyl ester (15, 16)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycine (9)

A solution of 45 g 2-naphthylsulphonyl chloride in 200 ml ether was added to a solution of 16.5 g glycine in 440 ml 1 N NaOH and the reaction mixture intensively stirred 4 hours at room temperature. The aqueous phase was subsequently acidified with 3 N HCl, the precipitate suctioned off, washed with water and dried. Yield: 76%, melting point 153-154°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine (10)

10 g of compound 2 were dissolved in 135 ml 1 N NaOH, a solution of 11.0 g of the (2-naphthylsulphonyl)-glycyl chloride obtained from compound 9 and thionyl chloride added to 120 ml ethyl acetate and the preparation intensively stirred 3 hours. Subsequently, a small amount of insoluble side product filtered off, the aqueous phase acidified with 3 N HCl and extracted with ethyl acetate. The organic phase was washed 1 time with water, dried via MgSO₄ and the solvent distilled off to the greatest extent

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 22 -

possible. The remaining residue crystallized when ground with ether. 50 ml ether were added, the precipitate suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 68%, melting point 156-158°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-t-butyl ester (11)

0.61 g sarcosine-t-butyl ester hydrochloride were dissolved in 4 ml DMF, the solution mixed with 0.74 ml NMM and a solution of 1.6 g of the N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl OSu ester obtained from compound 10, HOSu and DCC in 20 ml THF, and the reaction mixture stirred 16 hours. The solvent was subsequently distilled off, the residue absorbed in ethyl acetate, the solution washed with a 10% citric acid, saturated NaHCO₃ solution, dried via MgSO₄ and the raw product obtained after distilling off of the solvent was cleaned by column chromatography via silica gel 60 (chloroform/methanol 95:5 as eluting agent). Yield: 55%, melting point 134-136°C (from ethyl acetate).

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-t-butyl ester (12)

1.0 g of compound 11 was converted analogous to 6 and worked up. Yield: 89%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-t-butyl ester-hydroiodide (13)

0.85 g of the thioamide 12 were dissolved in 15 ml acetone, 1.5 g methyl iodide added and the solution stored, protected from light, at room temperature for 16 hours, whereby compound 13 crystallized out. The precipitate was suctioned off, washed with acetone/ether 1:1 and dried. Yield: 94%, melting point starting at 136°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-t-butyl ester-hydroiodide (14)

0.85 g of compound 13 were dissolved in 15 ml methanol, 0.16 g ammonium acetate added and converted analogous to 8 and worked up. Yield: 88%, amorphous powder.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 23 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-hydrochloride (15)

0.62 g of compound 14 were dissolved in 3 ml TFA and stirred 90 minutes at room temperature. Subsequently, the solvent was distilled off, the oily residue dissolved in 10 ml methanol and the solution brought to pH 7.4 with ethanolic ammonia solution. After 12 hours refrigerator storage the crystallized betain from 15 was suctioned off, washed with methanol and dried.

For conversion to hydrochloride, the betain was suspended in 5 ml methanol, the suspension acidified with a few drops of 2 N ethyl acetate/HCl and compound 15 precipitated out of the solution obtained with ether. The precipitate formed was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 64%, melting point 170°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-sarcosine-methyl ester-hydrochloride (16)

0.2 g of compound 15 were dissolved in 4 ml abs. methanol, 30 drops 2 N ethyl acetate/HCl added to the solution and the preparation allowed to stand 20 hours at room temperature. Through addition of ether, compound 16 was precipitated out of the reaction solution, suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 89%, melting point 120°C.

Example 3

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (21)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-ethyl ester (17)

1.5 g (D,L)-pipecolic acid-ethyl ester were dissolved in 10 ml THF, 1.4 g HOBT added and the preparation cooled down to 0°C. After addition of a solution of 3.0 g of compound 10 to 25 ml THF and 1.71 g DCC it was stirred over night. The precipitated urea derivate was subsequently filtered off and the solvent distilled off. The residue was absorbed in ethyl acetate, the solution washed with water, 10% citric acid, saturated

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 24 -

NaHCO₃ solution and dried via MgSO₄. After distilling off of the solvent, the raw product was cleaned by column chromatography via silica gel 60 (chloroform as eluting agent). Yield: 63%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (18)

2.4 g of compound 17 were dissolved in a mixture of, in each case, 25 ml 1 N NaOH and methanol and stirred in at room temperature until complete saponification (tf control). Approximately 30 ml solution were subsequently distilled off, the remaining solution acidified with 3N HCl, 100 ml water added and the precipitate formed suctioned off after standing several hours in the refrigerator, washed with water and dried. The raw product obtained was cleaned by column chromatography via silica gel 60 (chloroform/methanol 90:10 as eluting agent. Yield: 77%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (19)

1.7 g of compound 18 were converted analogous to 6 to 20 ml pyridine and 1.5 ml TEA and worked up. Yield: 94%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-hydroiodide (20)

1.7 g of compound 19 were dissolved in 40 ml acetone, 6.0 g methyl iodide added and the solution allowed to stand 16 hours at room temperature protected from light. 50 ml ether were subsequently added, whereby compound 20 initially resulted in an oily product. After draining off the supernatant solvent and homogenization with ether, a solid, amorphous product was able to be obtained. Yield: 76%.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-hydroiodide (21)

1.6 g of the thioimide acid ester hydroiodide 20 were dissolved in 15 ml methanol, the solution mixed with 0.28 g ammonium acetate and the preparation heated gently 3 hours at 60°C in a water bath. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 25 -

in 30 ml methanol and compound 21 precipitated out with ethyl acetate. The precipitate was suctioned off, washed with ethyl acetate and ether and dried. Yield: 75%, melting point 197-201°C.

Example 4

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid and methyl ester (26, 27)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid and ethyl ester (26, 27)

3.0 g of compound 10 were dissolved in 30 ml THF and the solution mixed with 0.7 g NMM, whereby the NMM salt from compound 10 precipitated out. After addition of 30 ml DMF the solution was cooled down, with stirring, to -4°C, 0.98 g chloroformic acid added to the suspension and stirred 30 minutes at -4°C. Thereafter, a solution of 1.62 g isonipecotine acid-ethyl ester was added to 20 ml THF, stirred another 60 minutes at -4°C and this continued at room temperature over night. The solvent was subsequently distilled off and the residue ground with methanol, whereby crystallization occurred. 50 ml 50% methanol were added, suctioned off and recrystallized from methanol/water. Yield: 68%, melting point 169-171°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (23)

2.5 g of compound 22 were dissolved in a solution of, in each case, 25 ml N NaOL and methanol and stirred 1 hour at room temperature. Subsequently, half of the solvent was distilled off, the remaining solution acidified with 1 N HCl and 150 ml water added. After standing for several hours, the precipitate formed was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 92%, melting point starting at 110°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 26 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (24)

2.1 g of compound 23 were dissolved in 20 ml pyridine and 2 ml TEA and converted analogous to 6 and worked up. The solid product obtained was suspended in 20 ml methanol, washed with methanol and dried. Yield: 70%, melting point 234-237°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-isonipecotine acid-hydroiodide (25)

1.2 g of compound 24 were dissolved under slight warming in 2 ml DMF, 50 ml acetone added to the solution and filtered. The filtrate was mixed with 4.0 g methyl iodide and the reaction mixture stirred 3 hours at room temperature. The mixture was subsequently poured into 250 ml ether, the precipitate formed suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 74%, amorphous powder.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-isonipecotine acid-hydrochloride (26)

0.8 g of thioimide acid ester hydroiodide compound 25 were dissolved in 15 ml methanol, the solution mixed with 0.15 g ammonium acetate and the preparation heated gently 3 hours at 60°C in a water bath, whereby the betain of 26 crystallized out. After standing for several hours, the precipitate formed was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 80%, melting point 235-242°C.

The conversion to hydrochloride took place in the manner described under 15. Yield: 91%, melting point starting at 165°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-isonipecotine acid-methyl ester hydrochloride (27)

0.2 g of compound 26 were dissolved in 5 ml abs. methanol, 50 drops 2 N ethyl acetate/HCl added to the solution and the preparation allowed to stand 20 hours at room temperature. Compound 27 was subsequently precipitated out with ether, suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 85%, melting point starting at 145°C.

Example 5

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 27 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -(D,L)-aspartyl and β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-piperide (35-37)

4-cyano-(D,L)-phenylalanine-methyl ester-hydrochloride (28)

20 g of compound 2 were dissolved in 150 ml abs. methanol, the solution mixed under ice cooling with 15 g concentrated H₂SO₄ and refluxed 24 hours. Subsequently, the methanol was distilled out in the vacuum, the residue alkalized with 3 N NaOH and extracted with 500 ml ethyl acetate. The organic phase was washed 2 times with saturated NaCl solution, dried via MgSO₄ and the solvent distilled off. The oily residue was dissolved in 20 ml methanol and the solution acidified with methanolic hydrochloric acid, whereby compound 28 already began to crystallize out. After addition of 400 ml ether the precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 78%, melting point 190-192°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-asparagine acid (29)

1.0 g (D,L)-asparagine acid- β -t-butylester was dissolved in 35 ml 0.33 M Na₂CO₃ solution; a solution of 1.42g 2-naphthylsulphonyl chloride added to 15 ml ether and the reaction mixture stirred 16 hours at room temperature, whereby the sodium salt of compound 29 precipitated out. 100 ml water were subsequently added and the precipitate dissolved under light heating. The solution obtained was extracted 2 times, in each case, with 50 ml ether, the aqueous phase acidified with 1 N HCl and allowed to stand for crystallization. The precipitate formed was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 66%, melting point 138-140°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine-methyl ester (30)

2.77 g of compound 28 were dissolved in 15 ml DMF, 1.28 ml NMM, 1.77 g HOBT and 2.27g DDC as well as a 4.0 g solution of compound 29 added to THF and the reaction mixture mixed overnight. Work up and cleaning by column chromatography took place analogous to 17. Yield: 85%, amorphous product.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 28 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine (31)

4.22 g of compound 30 were suspended in a mixture of 35 ml methanol and 15 ml 1 N NaOH and the preparation stirred 6 hours at room temperature. The solution obtained was subsequently mixed with 200 ml water, acidified with 1 N HCl and allowed to stand 10 hours. The precipitate formed was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 96%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine-piperidide (32)

2.5 g of compound 31 were dissolved in 30 ml THF, the solution, after cooling down to -18°C, mixed with 0.52 ml NMM and 0.62 cloroformic acid-isobutyl ester and stirred 15 minutes. Thereafter, 0.67 ml piperidine were added, stirred an additional 90 minutes at -18°C and, finally, until reaching room temperature. Work up took place analogous to 11. The raw product obtained was cleaned by column chromatography via silica gel 60 (chloroform/méthanol 95:5 as eluting agent). Yield: 86%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanine-piperidide (33)

0.6 of compound 32 were converted to 10 ml pyridine and 1 ml TEA analogous to 6 and worked up. Yield: 92%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-piperidide (34)

0.58 g of compound 33 were dissolved in 15 ml acetone, the solution mixed with 0.8 g methyl iodide and refluxed 15 minutes in a water bath. After cooling down, compound 34 was precipitated out through addition of 100 ml ether, suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 70%, amorphous product.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 29 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-(D,L)-piperidine-hydroiodide (35)

0.49 g of compound 34 were converted to 10 ml abs. ethanol with 0.15 g ammonium acetate analogous to 8 and worked up. Yield: 86%, melting point starting at 128°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-(D,L)-piperidine-hydrochloride (36)

2.0 g of compound 35 were suspended in 300 ml ethyl acetate, the suspension mixed with 40 ml 0.2 N NaOH and extracted. The organic phase was washed with water, dried via Na_2SO_4 and the solvent distilled off. The free base obtained from 35 was dissolved in 10 ml TFA, the solution stirred 2 hours at room temperature and the solvent subsequently distilled off. The residue was mixed with 1 ml 2 N ethyl acetate/HCl and compound 36 precipitated out with ether. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 79%, melting point starting at 155°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-(D,L)-piperidine-hydrochloride (37)

0.25 g of compound 36 were converted analogous to 16 and worked up. Yield: 86%, melting point starting at 135°C.

Example 6

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl- and (D,L) aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine (40, 41)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanine (38)

0.7 g of compound 31 were converted to 10 ml pyridine and 1 ml TEA analogous to 6 and worked up. Yield: 93%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanine-hydroiodide (39)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 30 -

0.7 g of compound 38 were converted analogous to 34 and worked up. Yield: 99%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-hydrochloride (40)

0.86 g of the thioimide acid-hydroiodide 39 were converted to 10 ml methanol with 0.3 g ammonium acetate analogous to 8 and worked up. The hydroiodide precipitating out was converted to the hydrochloride by dissolving the compound in 5ml methanol, mixing the solution with 1 ml methanolic hydrochloric acid and immediately precipitating out the hydrochloride with ether. This process was repeated once. The residue formed was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 59%, melting point starting at 168°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-hydrochloride (41)

0.3 g of compound 40 were dissolved in 4 ml TFA and stirred 5 hours at room temperature. Subsequently, the solvent was distilled off, the residue dissolved in 5 ml ethanol, 0.5 ml 2 N ethyl acetate/HCl added to the solution and compound 41 precipitated out with ether. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 70%, melting point starting at 112°C.

Example 7

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-, -D,L)-aspartyl- and β -methoxycarbonyl-(D,L) aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-methyl ester (44-46)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanine-methyl ester (42)

1.5 g of compound 30 were converted to 15 ml pyridine and 1.5 ml TEA analogous to 6 and worked up. Yield: 89%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanine-methyl ester-hydroiodide (43)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 31 -

1.56 g of compound 42 and 2.0 g methyl iodide were converted to 30 ml acetone analogous to 34 and worked up. Yield: 78%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-methyl ester-hydroiodide (44)

1.5 g of the compound and 0.5 g ammonium acetate were converted to 10 ml methanol analogous to 8 and worked up. Yield: 76%, melting point starting at 126°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-methyl ester-hydrochloride (45)

0.9 g of compound 44 were suspended in 200 ml ethyl acetate, the suspension mixed with 20 ml 0.2 N NaOH and extracted. The organic phase was washed with water, dried via MgSO₄ and the solvent distilled off, whereby 0.7 g of the free base were obtained from 44. The solution was dissolved in 7 ml TFA, stirred 2 hours at room temperature and the solvent subsequently distilled off. The residue was dissolved in 8 ml ethanol, the solution mixed with 1 ml 2 N ethyl acetate/HCl and compound 45 precipitated out with ether. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 77%, melting point starting at 78°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -methoxycarbonyl-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-methyl ester-hydrochloride (46)

0.25 g of compound 45 were dissolved in 5 ml abs. methanol, the solution mixed with 50 drops 2 N methanolic hydrochloric acid and the preparation stored 20 hours at room temperature. Subsequently, compound 46 was precipitated out with ether, suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 78%, melting point starting at 84°C.

Example 8

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-praline-t-butylester (53)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucine (47)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 32 -

5.0 g (D,L) leucine were dissolved in 200 ml 0.42 M sodium carbonate solution, a solution of 10.4 g 2-naphthylsulphonyl chloride added to 150 ml ether and the preparation stirred 16 hours at room temperature, whereby the sodium salt of compound 47 precipitated out. The precipitate was subsequently suctioned off, washed with ether and, under warming, dissolved in water. The solution was acidified with 1 N HCl, the precipitate formed suctioned off after standing for several hours, washed with water and dried. Yield: 52%, melting point 103-104°C (from ethyl acetate/hexane).

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine-methyl ester (48)

3.3 g of compound 28, 1.56 ml NMM and 2.16 g HOBT were dissolved in 10 ml DMF, the solution cooled down to 0°C and, under stirring, mixed with a solution of 4.1 g of compound 47 in 30 ml THF and 2.77 g DCC. The reaction mixture was stirred overnight at room temperature and subsequently worked up analogous to 17. Yield: 97%, melting point 105-107°C (from ethyl acetate/hexane).

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine (49)

6.3 g of compound 48 were dissolved in 50 ml methanol, 25 ml 1 N NaOH added and stirred at room temperature until complete saponification (tf control). Work up and cleaning by column chromatography took place analogous to 18. Yield: 61%, melting point 146-148°C (from methanol/water).

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butylester (50)

0.68 g (D)-proline-t-butylester, 0.67 g HOBT, 0.82 g DCC and 1.78 g of compound 49 were converted to 25 ml THF analogous to 17 and worked up. Cleaning took place by column chromatography via silica gel 60 (chloroform/methanol 97:3 as eluting agent). Yield: 85%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butylester (51)

1.0 g of compound 50 were converted analogous to 6 and worked up. Yield: 95%, amorphous product.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 33 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butylester-hydroiodide (52)

1.0 g of compound 51 and 1.1 g methyl iodide were converted to 20 ml acetone analogous to 34 and worked up. Yield: 60%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-leucyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butylester-hydroiodide (53)

0.67 g of compound 52 were dissolved in 10 ml methanol, the solution mixed with 0.1 g ammonium acetate and the preparation heated gently 3 hours at 60°C in a water bath. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved in a little methanol and compound 53 precipitated out with ether. Yield: 65%, melting point starting at 150°C.

Example 9

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide (57)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycl-4-cyano-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide (54)

0.9 g 4-methyl piperidine, 1.4 g HOBT, 1.71 g DCC and 1.94 g of compound 10 were converted to 34 ml THF analogous to 17 and worked up. Cleaning took place by column chromatography via silica gel 60 (chloroform as eluting agent). Yield: 84%, melting point 202-203°C (from ethyl acetate/hexane).

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycl-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide (55)

1.85 g of compound 54 were converted to 20 ml pyridine and 1.5 ml TEA analogous to 6 and worked up, whereby a solid product was obtained. 25 ml methanol were added, compound 55 suctioned off, washed with methanol and dried. Yield: 95%, melting point 235-236°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 34 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycl-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide-hydroiodide (56)

1.8 g of the thioamide 55 were dissolved in 3 ml DMF under warming, 100 ml acetone and 6 g methyl iodide added and the preparation stored, protected from the light, 16 hours at room temperature. It was subsequently poured into 250 ml ether, the precipitate formed suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 85%, amorphous powder.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glycl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide-hydroiodide (57)

1.2 g of compound 54 were dissolved in 30 ml methanol, the solution mixed with 0.21 g ammonium acetate and warmed gently 3 hours in a water bath, whereby a precipitate developed after a short time, which gradually dissolved again. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved in abs. ethanol and compound 57 precipitated out with ether. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 78%, melting point 198-204°C (sinter beforehand).

Example 10

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid and -methyl ester (62, 63)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid and -methyl ester (58)

2.2 g (D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid-methyl ester and 1.1 g NMM were dissolved in 20 ml ethyl acetate, a 4.0 g solution of the acid chloride obtained from compound 3 and thionyl chloride added dropwise in 50 ml ethyl acetate to the reaction mixture and stirred 2 hours at room temperature. The solvent was subsequently distilled off, the residue dissolved in 20 ml methanol and allowed to stand to crystallize. The precipitate formed was suctioned off, washed with methanol and dried. Yield: 65%, melting point 169-173°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 35 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-cyano-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (59)

2.0 g of compound 58 were suspended in a mixture of, in each case, 20 ml 1 N NaOH and methanol and stirred at room temperature until complete saponification, whereby after a short time a clear solution was obtained. Subsequently, half of the solvent was distilled off, 100 ml water added and acidified with 1 N HCl. After to the reaction mixture several hours, the precipitate formed was suctioned off, washed with water and dried. Yield: 93%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-thiocarboxamido-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (60)

1.3 g of compound 59 were converted to 20 ml pyridine and 1.5 ml TEA analogous to 6 and worked up. Yield: 98%, amorphous product.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-S-methyl iminothiocarbonyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid-hydroiodide (61)

1.3 g of the thioamide 60 were dissolved in 20 ml acetone, the solution mixed with 4.0 g methyl iodide and stored, protected from the light, 16 hours at room temperature. The solution was subsequently poured into 200 ml ether, the precipitate formed suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 86%, amorphous powder.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid-hydrochloride (62)

1.14 g of compound 61 were dissolved in 40 ml methanol, the solution mixed with 0.19 g hydroxyl ammonium acetate and the reaction mixture stirred 20 minutes at room temperature. Subsequently, a solution of 0.145 g NaHCO₃ in water was added, approximately 20 ml solvent distilled out and 50 ml water added. After 3-days' storage in the refrigerator, the crystallized betain of compound 62 suctioned off, washed with water and dried. Yield: 64%, melting point 162-178°C.

The conversion to the hydrochloride took place as described under 15. Yield: 92%, melting point starting at 165°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 36 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid-methyl ester-hydrochloride (63)

0.3 g of compound 62 were dissolved in 7.5 ml abs. methanol, 40 drops 3 N methanolic hydrochloric acid added and the preparation allowed to stand 30 hours at room temperature. Subsequently, half of the solvent was distilled off, compound 63 precipitated out with ether, suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 86%, melting point starting at 90°C.

Example 11

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (65) and -ethyl (64) and -methyl ester (66)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-ethyl ester-hydrochloride (64)

2.0 g of compound 4 were dissolved in a mixture of, in each case, 15 ml dioxane and methanol, 20 ml ethanolic ammonia solution added and hydrated in the presence of Raney nickel catalyst under normal conditions. After complete hydration (tf control), the solution was filtered off, the solvent distilled off and the oily residue dissolved in a little ethanol. The solution obtained was acidified with 2 N ethyl acetate/HCl and compound 64 precipitated out with ether, whereby the product became solid only after prolonged standing. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 58%, melting point starting at 115°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-hydrochloride (65)

1.14 g of compound 64 were suspended in a mixture of, in each case, 12 ml 1 N NaOH and methanol and the preparation stirred at room temperature until complete saponification. The solution obtained was subsequently acidified with 3 N HCl and the solvent distilled off in the vacuum. To remove the remaining water, the solution was codistilled 2 times with isopropanol/toluol 1:1. The solid residue was extracted with 40 ml abs. ethanol, filtered off from undissolved NaCl and compound 65 precipitated out

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 37 -

of the filtrate after evaporation to low bulk with ether. The precipitate was suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 75%, melting point starting at 155°C.

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-methyl ester-hydrochloride (66)

0.32 g of compound 65 were dissolved in 10 ml abs. methanol, the solution mixed with 2 ml 3 N methanolic hydrochloric acid and allowed to stand 20 hours at room temperature. Subsequently, compound 66 was precipitated out through addition of ether, the precipitate formed suctioned off, washed with ether and dried. Yield: 85%, melting point, starting at 130°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 38 -

TABLE OF
ELEMENTARY ANALYSES and DC DATA

NO.	FORMULA	M.G.		C	H	N	S	DC R _f (LS)
3	$C_{20}H_{16}N_2O_4S$	380.426	Range	63.15	4.24	7.36	8.43	0.32 (2)
			Gradient	63.40	4.48	7.66	8.30	
4	$C_{28}H_{29}N_3O_5S$	519.625	Range	64.76	5.63	8.09	6.17	0.83 (2)
			Gradient	64.46	5.85	8.09	6.45	
5	$C_{26}H_{25}N_3O_5S$ ·H ₂ O	509.587	Range	61.28	5.34	8.24	6.29	0.56 (2) 0.53
			Gradient	61.17	5.01	8.11	6.66	
8	$C_{26}H_{29}N_4O_5S$ · HI	636.515	Range	49.06	4.59	8.80	5.04	0.39 (1)
			Gradient	49.48	4.92	9.01	5.28	
10	$C_{22}H_{18}N_3O_5S$	436.471	Range	60.54	4.16	9.63	7.35	0.12 (2)
			Gradient	60.27	4.31	9.23	7.48	
11	$C_{29}H_{34}N_4O_5S$	566.683	Range	61.47	6.05	9.89	5.66	0.65 (2)
			Gradient	61.93	5.96	9.73	5.67	
15 H	$C_{25}H_{27}N_5O_5S$ · HCl · O ₂ O	580.067	Range	51.77	5.21	12.07	5.53	0.17 (1)
			Gradient	51.31	5.50	11.81	5.40	
16 H	$C_{26}H_{29}N_5O_6S$ · HIS · O ₂ O	594.094	Range	52.57	5.43	11.79	5.40	0.27 (1)
			Gradient	52.03	5.74	11.56	5.52	
17	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Range	62.48	5.59	9.72	5.56	0.79 (2)
			Gradient	62.48	5.86	9.68	5.80	
18	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Range	61.30	5.14	10.21	5.84	0.50 (2) 0.39
			Gradient	61.11	5.46	10.14	5.75	
21	$C_{28}H_{32}N_5O_6S$ · HI	693.568	Range	48.49	4.65	10.10	4.62	0.24 (1)
			Gradient	48.83	4.88	10.43	4.93	
22	$C_{30}H_{32}N_4O_6S$	576.678	Range	62.48	5.59	9.72	5.56	0.75 (2)
			Gradient	62.24	5.88	10.04	5.60	
23	$C_{28}H_{28}N_4O_6S$	548.624	Range	61.30	5.14	10.21	5.84	0.49 (2)
			Gradient	61.14	5.23	9.81	6.20	
26 H	$C_{28}H_{31}N_5O_6S$ · HCl · O ₂ O	620.132	Range	54.23	5.53	11.29	5.17	0.20 (1)
			Gradient	54.04	5.48	11.12	5.02	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 39 -

NO.	FORMULA	M.G.		C	H	N	S	<u>DC</u> R _f (LS)
27	C ₂₉ H ₃₃ N ₅ O ₆ S·HCl ·H ₂ O	634.159	Range Gradient	54.93 54.76	5.72 5.83	11.04 11.04	5.06 4.96	0.26 (1)
29	C ₁₈ H ₂₁ NO ₆ S	379.437	Range Gradient	56.98 56.49	5.58 5.38	3.69 3.67	8.45 8.51	0.40 (2)
30	C ₂₉ H ₃₁ N ₃ O ₇ S	565.652	Range Gradient	61.58 61.48	5.52 5.90	7.43 7.68	5.67 5.64	0.78 (2)
31	C ₂₈ H ₂₉ N ₃ O ₇ S ·H ₂ O	569.641	Range Gradient	59.04 58.76	5.49 5.25	7.38 7.26	5.63 5.86	0.27 (2)
32	C ₃₃ H ₃₈ N ₄ O ₆ S	618.759	Range Gradient	64.06 63.78	6.19 6.41	9.05 8.92	5.18 5.30	0.79 (2)
35	C ₃₃ H ₄₁ N ₅ O ₆ S·HI ·H ₂ O	781.719	Range Gradient	50.70 50.31	5.67 5.64	8.96 9.07	4.10 4.40	0.43 (1)
36	C ₂₉ H ₃₃ N ₅ O ₆ S·HCl	616.143	Range Gradient	56.53 56.94	5.56 5.829	11.37 11.21	5.20 5.44	0.23 (1)
37	C ₃₀ H ₃₅ N ₅ O ₆ S·HCl	630.170	Range Gradient	57.18 57.49	5.76 5.72	11.11 11.03	5.09 5.41	0.32 (1)
40	C ₂₈ H ₃₂ N ₄ O ₇ S·HCl	605.117	Range Gradient	55.58 54.91	5.50 5.44	9.26 9.55	5.30 5.76	0.33 (1)
41	C ₂₄ H ₂₄ N ₄ O ₇ S·HCl	576.033	Range	50.05	4.90	9.73	5.57	0.18 (1)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 40 -

		H ₂ O	Gradient	50.07	5.09	9.84	5.54	
44	C ₂₉ H ₃₄ N ₄ O ₇ S·HI	710.596	Range	49.02	4.96	7.88	5.41	0.53 (1)
			Gradient	49.26	5.14	7.78	4.92	
45	C ₂₅ H ₂₆ N ₄ O ₇ S·HCl	563.036	Range	53.33	4.83	9.95	5.69	0.31 (1)
			Gradient	53.42	4.61	9.75	5.63	
46	C ₂₆ H ₂₈ N ₄ O ₇ S·HCl	577.063	Range	54.21	4.90	9.73	5.57	0.41 (1)
			Gradient	53.76	5.05	9.91	5.95	
47	C ₁₆ H ₁₉ NO ₄ S	321.399	Range	59.79	5.96	4.36	9.98	0.48 (2)
			Gradient	59.77	5.89	4.64	9.89	
48	C ₂₇ H ₂₉ N ₃ O ₅ S	507.614	Range	63.89	5.76	8.28	6.32	0.73 (2)
			Gradient	63.84	5.90	8.15	6.39	
49	C ₂₆ H ₂₇ N ₃ O ₅ S	493.587	Range	63.27	5.51	8.51	6.50	0.30 (2)
			Gradient	62.29	5.54	8.40	6.61	
50	C ₃₅ H ₄₂ N ₄ O ₆ S	646.813	Range	65.00	6.55	8.66	4.96	0.79 (2)
			Gradient	65.20	6.84	8.54	5.39	
53	C ₃₅ H ₄₅ N ₅ O ₆ S·HI	791.757	Range	53.10	5.86	8.85	4.05	0.46 (1)
			Gradient	52.93	5.99	8.71	4.22	
54	C ₂₈ H ₃₀ N ₄ O ₄ S	518.640	Range	64.84	5.83	10.80	6.18	0.79 (2)
			Gradient	65.00	6.15	11.28	6.40	
57	C ₂₈ H ₃₃ N ₅ O ₄ S·HI	663.584	Range	50.68	5.16	10.55	4.83	0.53 (1)
			Gradient	50.37	5.21	10.35	5.20	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 41 -

58	<chem>C31H27N3O5S</chem>	553.642	Range	67.25	4.92	7.59	5.79	0.83 (2)
			Gradient	67.44	5.13	7.72	5.44	
59	<chem>C30H25N3O5S</chem>	557.631	Range	64.62	4.88	7.54	5.75	0.56
			Gradient	65.08	5.12	7.87	5.45	0.52 (2)
62	<chem>C30H28N4O6S.HCl</chem>	627.123	Range	57.46	5.13	8.93	5.11	0.65 (1)
			Gradient	57.22	5.17	8.67	5.40	
63	<chem>C31H30N4O6S.HCl</chem>	641.150	Range	58.07	5.19	8.74	5.00	0.83 (1)
			Gradient	58.05	5.09	8.37	5.16	
64	<chem>C28H33N3O5S.HCl</chem>	578.134	Range	58.17	6.28	7.27	5.55	0.33 (1)
			Gradient	57.90	6.03	7.05	5.82	
65	<chem>C26H29N3O5S.HCl</chem>	550.080	Range	56.77	5.86	7.64	5.83	0.27 (1)
			Gradient	56.86	5.83	7.44	6.10	
66	<chem>C27H32N3O5S.HCl</chem>	564.107	Range	57.49	6.08	7.45	5.68	0.34 (1)
			Gradient	57.43	5.74	7.38	5.92	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 42 -

Overview of further compounds synthesized in accordance with the previously indicated production methods not listed in the Examples 1-11:

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- γ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine (68)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- γ -t-butoxy-(D,L)-glutamyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperide (69)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L), asparagyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butyl ester (70)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)- β -t-butoxy-(D,L)-aspartyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl(D)-proline (71)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-glutaminyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine (72)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanine (73)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycine (74)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycine-methyl ester (75)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-phenylglycine-t-butyl ester (76)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid (77)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolic acid (78)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolic acid-methyl ester (79)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl piperide (80)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-glcyl-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (81)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanine (82)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperide (83)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (84)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid-methyl ester (85)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 43 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid (86)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-piperide-2-on-carboxylic acid (87)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl-(D,L)-pipecolic acid (88)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotine acid (89)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-amidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotine acid-methyl ester (90)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotine acid (91)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-nipecotine acid-methyl ester (92)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid (93)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-methyl ester (94)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (95)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid-methyl ester (96)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-oxamidino-(D,L)-phenylalanine-4-methyl piperidide (97)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipetocine acid-ethyl ester (98)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipetocine acid (99)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipetocine acid-methyl ester (100)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-nipetocine acid-n-butyl ester (101)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-pipecolic acid-ethyl ester (102)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-pipecolic acid-n-butyl ester (103)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid-ethyl ester (104)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid (105)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 44 -

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid-methyl ester (106)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-isonipecotine acid-n-butyl ester (107)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid-methyl ester (108)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid (109)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid-ethyl ester (110)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-(D,L)-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid-n-butyl ester (111)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(D,L)-phenylalanyl-4-methyl piperidide (112)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-proline-t-butyl ester (113)

N- α -(2-naphthylsulphonyl)-4-aminomethyl-(L)-phenylalanyl-(D)-proline (114)

To be cited as examples of the general formula I with para-position basic grouping (R1 = (a) to (e)), unless not already listed, are:

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 45 -

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters
phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-glycyl

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-alanyl and - β -alanyl

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 46 -

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-leucyl

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-aspartyl- and β -alkoxy-aspartyl-

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 47 -

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-asparaginyl-

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-glutamyl-and γ -alkoxy-glutamyl-

phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides

phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides

phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides

phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

phenylalanyl-decahydroisochinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

N- α -(tosyl)- and (1- or 2-naphthylsulphonyl)-glutaminyl-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 48 -

- phenylalanine-alkyl, arakyl and aryl esters
- phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-pyrrolidides
- phenylalanine-alkyl, hydroxyalkyl- and hydroxy-piperidides
- phenylalanine-N-alkyl-, N-aryl- and N-alkoxy carbonyl-piperazides
- phenylalanyl-proline and -hydroxyproline and -alkyl-, arakyl and aryl esters
- phenylalanyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acid and their -alkyl-, arakyl and aryl esters
- phenylalanyl-alkyl-piperidine-2-, 3- or 4-carboxylic acids and their -alkyl-, arakyl and aryl esters
- phenylalanyl-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters
- phenylalanyl-decahydroisoquinoline-3-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters
- phenylalanyl-decahydroisoquinoline-4-carboxylic acid and -alkyl-, arakyl and aryl esters

The compounds listed can be present as racemates and, following corresponding separation, as pure enantiomers and/or diastereomers.

The biological properties of representative compounds in accordance with the invention are listed in the following:

In Table 1, inhibition of clotting enzymes thrombin and trypsin by the compounds cited is indicated by the dissociation constant K_i (expressed in $\mu\text{mol}/1$). All compounds examined competitively inhibit the substrate separation effected by both enzymes. Among the 4-amidino phenylalanine derivates listed in Table 1 a series of compounds with high antithrombin activity, i.e., with K_i values below $1 \mu\text{mol}/1$, is found. Thrombin inhibition is comparatively stronger than inhibition by trypsin. K_i values for trypsin inhibition usually lie on an order of magnitude of 1 to 2 times higher than those for thrombin inhibition.

The compounds derived from 4-oxamido phenylalanine and 4-aminomethyl phenylalanine produce lower antithrombin activity; some of them, however, have usable K_i values for thrombin inhibition in the micromolar range.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 49 -

Abbreviations in Tables 1 and 2:

for R¹, Am = amidino, Ox = oxamidino, AMe = aminomethyl

for R², Ppd = piperidine, Ppd(4-Me) = 4-methylpiperidine, OH = carboxylic acid, OMe = methyl ester, OEt = ethyl ester, OnBu = n-butyl ester, OtBu = t-butyl ester, Pro = proline, Pip-OH = pipecolic acid, iNip-OH = isonipecotine acid, Nip-OH = nipecotine acid, Sar-OH, sarcosine, Tic-OH = 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline-3-carboxylic acid, Phg-OH = phenyl-glycine, Pip(4-Me) = 4-methyl-D,L-pipecaine acid, 2-Ppn-3-COOH = piperide-2-on-3-carboxylic acid

for R⁴, Na = 2-naphthyl

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 50 -

Table 1

Inhibition of thrombin and trypsin by Na-protected 4-substituted phenylalanine derivates

Compound	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	K _i [μmol/l]	
						Thrombin	Trypsin
NAPAP	Am	Ppd	1	H	Na	0.006	0.69
36	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OH	Na	0.45	7.5
41	Am	OH	1	CH ₂ CO-OH	Na	640	300
45	Am	OMe	1	CH ₂ CO-OH	Na	60	107
37	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OMe	Na	0.24	5.9
46	Am	OMe	1	CH ₂ CO-OMe	Na	7.1	27
35	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OtBu	Na	0.47	12
40	Am	OH	1	CH ₂ CO-OtBu	Na	17	66
44	Am	OMe	1	CH ₂ CO-OtBu	Na	3.8	46
70	Am	D-Pro-OtBu	1	CH ₂ CO-NH ₂	Na	0.51	85
69	Am	Ppd	1	(CH ₂) ₂ CO-OtBu	Na	0.53	3.4
53	Am	D-Pro-OtBu	1	CH ₂ CH(CH ₃) ₂	Na	0.56	55
57	Am	Ppd (4-Me)	1	H	Na	0.0016	0.06
26	Am	iNip-OH	1	H	Na	2.0	2.6
27	Am	iNip-OMe	1	H	Na	0.29	0.71
15	Am	Sar-OH	1	H	Na	5.9	6.5
16	Am	Sar-OH	1	H	Na	0.19	0.9
21	Am	D,L-Pip-OH	1	H	Na	1.4	4.3
80	Ox	Ppd (4-Me)	1	H	Na	48	230
8	Am	D,L-Pip-OH	0	-	Na	5.8	34
83	Am	Ppd (4-Me)	0	-	Na	0.34	10.4
84	Am	iNip-OH	0	-	Na	170	160
85	Am	iNip-OMe	0	-	Na	3.2	3.1
89	Am	Nip-OH	0	-	Na	34	120
90	Am	iNip-OMe	0	-	Na	0.68	16

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 51 -

Table 1 (cont.)

Compound	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	K _i [μmol/l]	
						Thrombin	Trypsin
113	AMe	Ppd (4-Me)	0	-	Na	2.5	11
106	AMe	iNip-OH	0	-	Na	140	62
107	AMe	iNip-OMe	0	-	Na	33	2.2
100	AMe	Nip-OH	0	-	Na	50	41
101	AMe	Nip-OMe	0	-	Na	3.9	30
65	AMe	D,L-Pip-OH	0	-	Na	47	160
66	AMe	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	1.3	82
109	AMe	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	42	140
110	AMe	D,L-Tic-OH	0	-	Na	90	41
98	Ox	Ppd (4-Me)	0	-	Na	2.5	180
96	Ox	iNip-OH	0	-	Na	410	350
97	Ox	iNip-OMe	0	-	Na	4.8	530
92	Ox	Nip-OH	0	-	Na	190	430
93	Ox	Nip-OMe	0	-	Na	28	400
94	Ox	D,L-Pip-OH	0	-	Na	19	340
95	Ox	D,L-Pip-OMe	0	-	Na	2.2	330
62	Ox	D,L-Tic-OH	0	-	Na	3.2	200
63	Ox	D,L-Tic-OMe	0	-	Na	22	97

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 52 -

The inhibition effect of some representative compounds in accordance with the invention vis-à-vis factor X_a and factor XII_a, protein C_a, plasmin, plasma kallikrein, tPA and glandular kallikrein is illustrated in Table 2. The inhibition of other enzymes is usually substantially weaker, for example, protein C_a, plasmin, plasma kallikrein and factor X_a (K_i 2 orders of magnitude greater). Vis-à-vis factor XII_a, tPA and glandular kallikrein the derivates are practically ineffective. For the majority of the compounds, therefore, one can speak of selective thrombin inhibitors.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 53 -

Table 2Inhibition of thrombin, trypsin, plasmin, factor XII_a, protein C_u, tPA, plasma and glandular kallikrein

Compound	R ¹	R ²	n	R ³	R ⁴	Thrombin	Trypsin	Plasmin	Xa	XIIa	Factor	Factor	Protein	Gland.	Plasma	K _i [μmol/l]	
36	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OH	Na	0.45	7.5	260	4.8	25	270	6.6	>1000	47			
37	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OMe	Na	0.24	5.9	170	2.2	34	39	13	1000	33			
35	Am	Ppd	1	CH ₂ CO-OtBu	Na	0.47	12	190	105	>1000	210	670	200	90			
44	Am	OMe	1	CH ₂ CO-OtBu	Na	3.8	46	110	85	330	310	180	69	5.0			
57	Am	Ppd (4-Me)	1	H	Na	0.0015	0.06	25	22	>1000	5.1	530	170	14			
26	Am	1N1p-OH	1	H	Na	2.0	2.6	240	61	>1000	87	630	>1000	51			
27	Am	1N1p-OMe	1	H	Na	0.29	0.71	16	67	>1000	7.0	500	130	20			
15	Am	Sar-OH	1	H	Na	5.9	6.5	87	31	700	620	29	730	12			

THIS PAGE BLANK (USPTO)

	Am	Sar-OMe	1	H	Na	0.19	0.9	15	13	40	6.8	26	200	37
16														
83	Am	Ppd (4-Me)	0	-	Na	0.34	10.4	70	31	>1000	310	>1000	130	190
90	Am	N1p-OMe	0	-	Na	0.68	16	180	26	>1000	890	>1000	19	160
113	AMe	Ppd(4-Me)	0	-	Na	2.5	11	75	47	>1000	930	>1000	500	400
101	AMe	Nip-OMe	0	-	Na	3.9	30	13	80	>1000	>1000	>1000	400	>1000
66	AMe	D ₁ L-Pip-OMe	0	-	Na	1.3	82	234	17	>1000	290	>1000	240	>1000
98	Ox	Ppd(4-Me)	0	-		2.5	180	>1000	140	>1000	>1000	>1000	320	150
97	Ox	1Nip-OMe	0	-	Na	4.8	530	>1000	270	>1000	>1000	>1000	530	>1000
95	Ox	D ₁ L-Pip-OMe	0	-	Na	2.2	330	540	39	>1000	>1000	>1000	890	>1000
62	Ox	D ₁ L-Pic-OH	0	-	Na	3.2	200	>1000	120	>1000	>1000	>1000	470	>1000

THIS PAGE BLANK (USPTO)

In comparison to derivates of amino acids containing benzamidine (LD_{50} 10 - 50 mg/kg after intravenous application) tested earlier, the toxicity of the compounds in accordance with the invention is distinctly lower. Thus, for example, for compound 26 a LD_{50} -value of 210 mg/kg following intravenous application was found.

Table 3 summarizes the results of the tests of the pharmacokinetics of two compounds in accordance with the invention and as a comparison thereto, the values with NAPAP. The compounds were administered subcutaneously and perorally in rats. After administration, blood samples were taken at time intervals from 2 to a maximum of 360 minutes from the test animals in which the blood level of the compound to be tested was determined by means of HPLC.

Table 3

Concentration (ng/ml) of the selected compounds in rat plasma following subcutaneous (5 mg/kg) and peroral (100 mg/kg) administration (see also Illustration 2).

Time (min)	NAPAP		Compound 26		Compound 36
	s.c.	p.o.	s.c.	p.o.	s.c.
15	294	0	1344	1867	260
30	375	0	2023	1584	590
45	324	0	2072	848	596
60	361	0	1859	537	551
90	330	0	1541	301	431
120	327	0	1437	235	363
180	230	0	1297	189	259
240	173	-	1095	184	201
300	-	-	936	201	185
360	-	-	184	206	-

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 56 -

In comparison to NAPAP, derivate 26 tested exhibited improved pharmacokinetic behavior. After subcutaneous administration relatively high, long-lasting blood levels were found. After oral administration, NAPAP cannot be detected in the plasma, while the compounds in accordance with the invention tested by way of example reach relatively high concentrations.

In vitro, a series of representative compounds in accordance with the invention are effective as anticoagulants. In all cases, thrombin time (TT) was most effectively lengthened. This corresponds to the selectivity of these inhibitors which, among clotting factors, inhibit thrombin the most strongly. A prolongation of activated partial thromboplastin time (aPTT), in which, besides thrombin, the enzymes involved in the early phase of coagulation come to bear, is achieved through higher concentration of the inhibitors. This also applies to the influencing of prothrombin time (PT), which represents the extrinsic coagulation path. That is shown in an exemplary manner for compound 57 in Ill. 1.

Expediently, the phenylalanine derivates produced according to one of the methods in accordance with the invention are converted as such or as salts with a physiologically compatible inorganic or organic acid using suitable pharmaceutical adjuvant substances. In conformity with the pharmacokinetic behavior, these are, in particular, transdermal therapy systems like patches, but also tablets, dragées, capsules, suppositories, solutions, etc.

Dosaging depends on antithrombin effectiveness, toxicity, possible blood level values, bioavailability and kind of application of the compound in accordance with the invention used and, very generally, on the blood values, weight and general condition of the patient, such that dosaging must, in the final analysis, be determined by the practicing physician. In principle, dosaging corresponds to that of known thrombin-inhibiting compounds and lies between approximately 0.2 mg/kg and approximately 20 mg/kg body weight, whereby, if applicable, higher doses can also be administered. For an adult patient, therefore, daily doses of a compound in accordance with the invention from approximately 50 mg to approximately 1600 mg or more, result.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 57 -

With the aid of compound 26 the conversion into 4 pharmaceutical forms of administration shall be shown by way of example.

Example 1

Tablets with 100 mg of compound 26 as active ingredient

Composition:

1 tablet contains 100 mg active ingredient, 60 mg lactose, 30 mg wheat starch and 1 mg magnesium stearate.

Production method

The active ingredient mixed with lactose and wheat starch is uniformly thoroughly moistened with a 20% ethanolic solution of polyvinyl pyrrolidone, pressed through a 1.5 mm mesh sieve and dried at 40°C. The granulate obtained in this manner is mixed with magnesium stearate and pressed into tablets.

Example 2

Dragées with 50 mg of compound 26 as active ingredient

Composition:

1 dragée contains 50 mg active ingredient, 30 mg lactose, 15 mg wheat starch.

Production method

The active ingredient mixed with lactose and wheat starch is granulated in the manner described under Example 1 and pressed into oval tablet cores which are subsequently made into dragées. For the dragée-forming process, a sugar mixture, consisting of 48 g powdered sugar, 18 g gum arabic, 48 g wheat starch and 4 g magnesium stearate and, as binder, a mixture of equal parts mucilago gums arabic and water are used.

Example 3

Suppositories with 100 mg of compound 26 as active ingredient

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Composition:

1 suppository contains 100 mg active ingredient and 0.9 g cetylphthalate as base.

Production method

1.0 g of the finely pulverized active ingredient are triturated with twice the amount of the liquefied base. The trituration is proportionately mixed with the remainder of the liquefied base and worked to uniform constitution. In the vicinity of pourability, the mixture is poured into a suitable mold and allowed to stand until cool.

Example 4

Injection or injection solution with 10 mg/ml of compound 26 as active ingredient

Production method

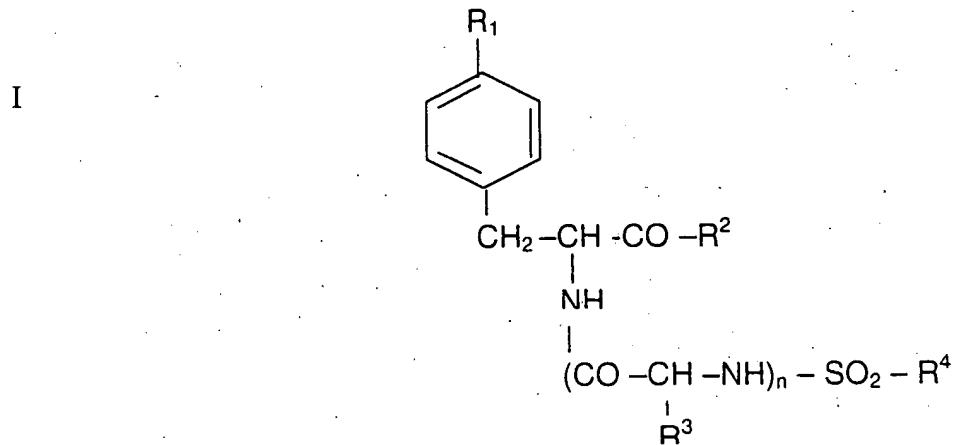
1.0 g active ingredient are dissolved ad injectionem in 100 ml aqua, the solution filtered and, if applicable, bottled in 2 ml ampoules. The vessels filled with the active ingredient solution and sealed are subjected to vapor sterilization at 121 to 124°C.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

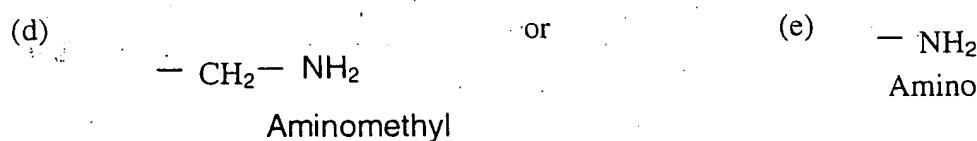
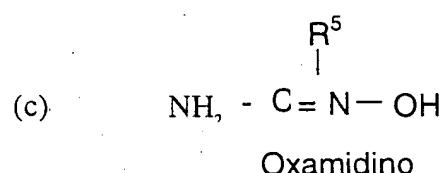
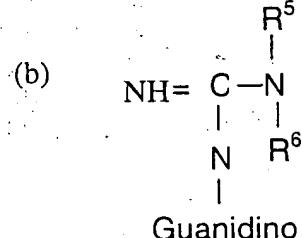
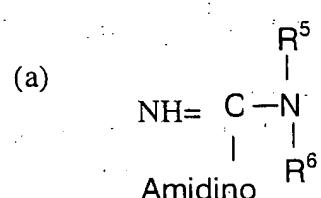
- 59 -

PATENT CLAIMS

1. D,L-, L- and D-phenylalanine derivates of the formula



in which

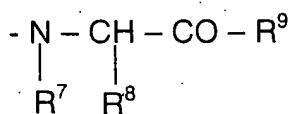
 R^1 represents a basic group of the formula

THIS PAGE BLANK (USPTO)

wherein, R⁵ and R⁶, in the formulas (a) and (b), designate in each case a hydrogen or a straight-chain or branched low alkyl group,

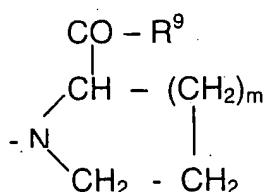
R² (f) is OH, O-alkyl, O-cycloalkyl, O-aralkyl,

(g) represents a group of the formula



in which R⁷ designates hydrogen or a straight-chained or branched low alkyl group and R⁸ a straight-chained or branched low alkyl group, a 1- or 2-hydroxyethyl group, a methyl mercapto ethyl group, an aminobutyl group, a guanidino propyl group, a carboxy (low) alkyl group, a phenyl (low) alkyl group, whose ring, if applicable, is substituted by OH, halogen, low alkyl or methoxy, a cyclohexyl or cyclohexyl methyl group, whose ring, if applicable, is substituted by OH, halogen, low alkyl or methoxy, or an N-heteroaryl (low) alkyl group with 3 to 8 carbon atoms in the heteroaryl, e.g., imidazolyl methyl or indolyl methyl, wherein the group (g) is racemic or D- or L-configured,

(h) represents a group of the formula

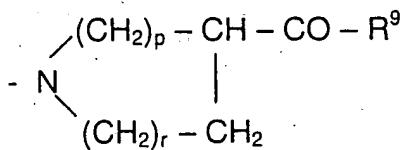


in which m designates the number 1 or 2 and in which one of the methylene groups is possibly substituted by a hydroxyl, carboxyl, low alkyl or aralkyl group, wherein the group (h) is racemic or D- or L-configured,

(i) represents a group of the formula

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 61 -



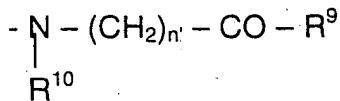
in which $p = r = 1$, $p = 1$ and $r = 2$ or $p = 2$ and $r = 1$ and in which one of the methylene groups is possibly substituted by a hydroxyl, carboxyl, low alkyl or aralkyl group,

(k) represents a piperidyl group which is possibly substituted in one of the positions 2, 3 and 4 by low alkyl, hydroxyalkyl or hydroxy group,

wherein a further aromatic or cycloaliphatic ring, preferably phenyl or cyclohexyl, is fused to the heterocycloaliphatic rings of the formulas (h), (i), (k) in the 2,3 or 3,4 position, referenced to the heteroatom,

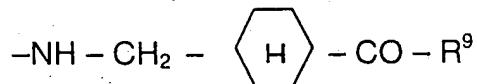
(l) a piperazyl group, which is possibly substituted in p-position by an alkyl group, a aryl group or an alkoxy carbonyl group;

(m) represents a group of the formula



in which n' designate the numbers 1 through 6 and R^{10} hydrogen or the methyl or cyclohexyl group and R^1 is = (b) to (e),

(n) represents a group of the formula



wherein R^9 designates in the formulas (g), (h), (i), (l), (m) and (n) a hydroxyl, straight-chained or branched low alkoxy, cycloalkoxy or an aralkoxy group,

or

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 62 -

(o) represents a combination from 2 to 20, preferably 2 to 5, in particular 2 or 3, of the derived groups defined under (g), (h), (i), (k), (l), (m) and (n), linked together by amide bonds (R^9 = single bond), wherein the C-terminal group is possibly coupled to a group R^9 ,

R^3 represents hydrogen or straight-chained or branched low alkyl, aralkyl, carboxyalkyl, alkoxy carbonyl-alkyl-, carboxamido-alkyl-, heteroarylalkyl- or a 1- or 2-hydroxyethyl group, wherein n designates the number 0 or 1 and the amino acid possibly inserted is racemic or D- or L-configured, and

R^4 represents an aryl group, e.g. phenyl, methylphenyl, α - or β -naphthyl or 5-dimethylamino)-naphthyl, or a heteroaryl group, e.g. quinolyl,
whereby low represents 1-4 carbon atoms,

and their salts with mineral acids or organic acids.

2. Phenylalanine derivates in accordance with patent claim 1, in which

R^2 is O-alkyl, O-cycloalkyl or aralkyl if n=0, represents a heterocycloaliphatic group explained in greater detail in the formulas (h), (i), (k) and (l),

R^4 designates β -naphthyl and

n means the number 1, if R^2 is different from O-alkyl, O-cycloalkyl or aralkyl.

3. Utilization of the phenylalanine derivates in accordance with patent claim 1 or 2 for the production of orally, anally, subcutaneously or intravenously administered, antithrombotically active pharmaceutical preparations.

4. Orally, anally, subcutaneously or intravenously administrable, antithrombotically active pharmaceutical preparation, characterized by an effective amount of at least one phenylalanine derivate in accordance with patent claim 1 or 2 and suitable pharmaceutical adjuvant substances.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

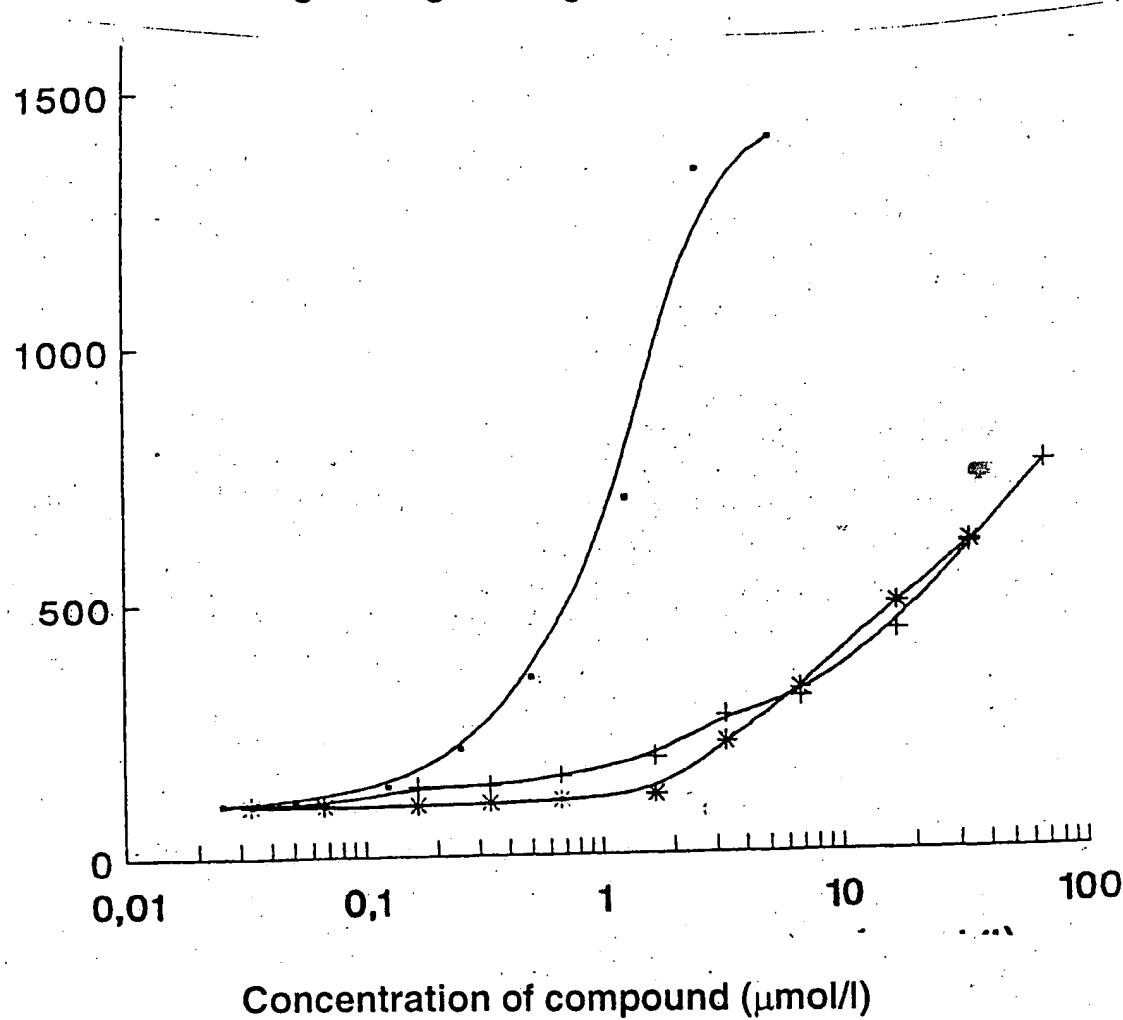
- 63 -

5. Antithrombotically effective pharmaceutical preparation in accordance with patent claim 4 in the form of tablets, dragées, capsules, pellets, suppositories, solutions or transdermal systems, like patches.
6. Method for coagulation or, respectively, thrombin inhibition in living creatures, in particular in humans, through administration of an effective amount of at least one compound in accordance with either patent claim 1 or 2 or, respectively, a pharmaceutical preparation in accordance with one of patent claim 4 or 5.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 64 -

1/2

Illustration 1**Lengthening of Coagulation Times by
Compound 57 in vitro****Lengthening of coagulation time in %**

Thrombin time

a PTT

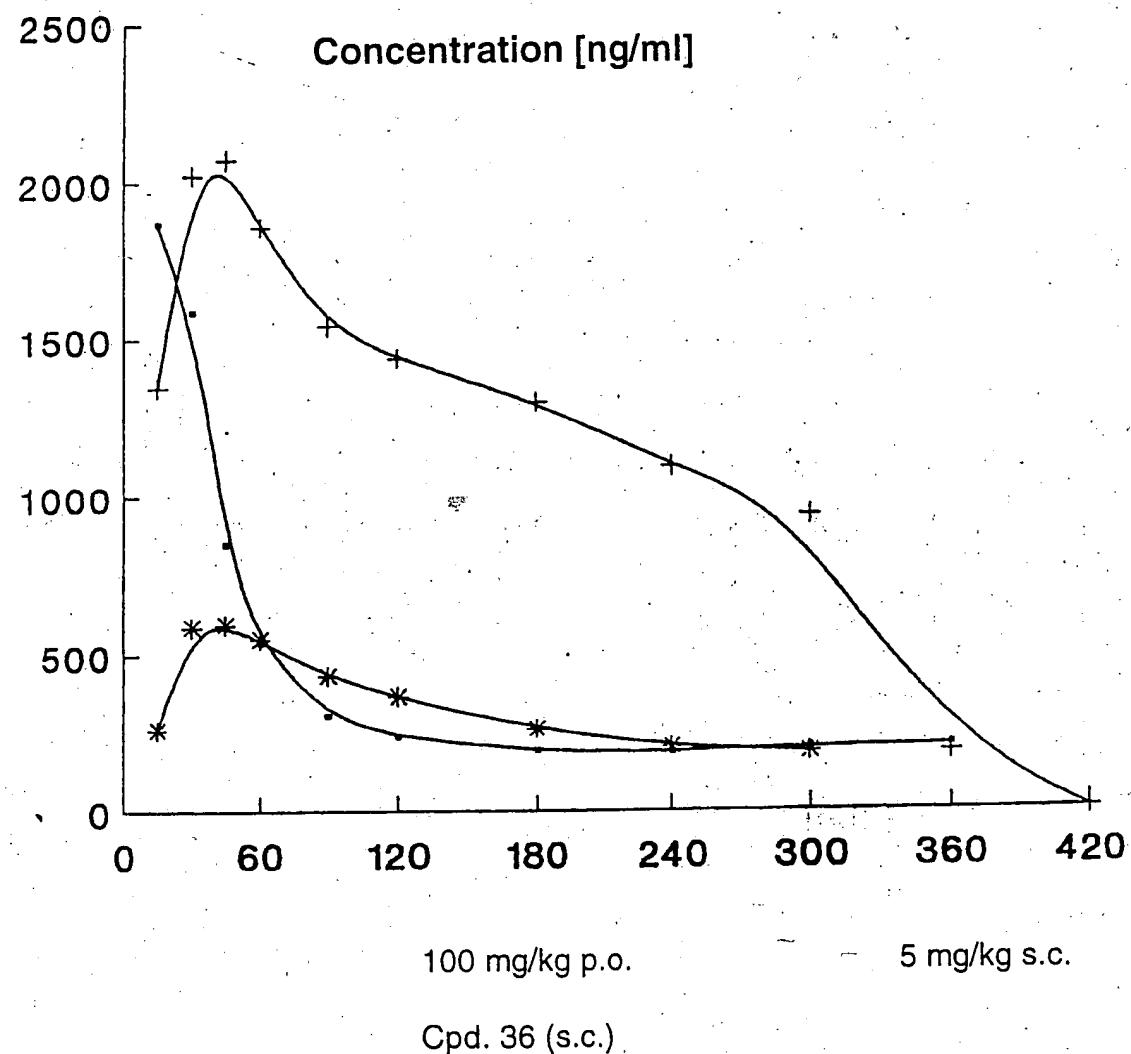
Prothrombin time

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- 65 -

1/2

Illustration 2: Plasma levels of compound 26 after p.o. + s.c. application and compound 36 following s.c. application



eof

THIS PAGE BLANK (USPTO)